COLEÇÃO

BIO

Tópicos em Virologia

Elba Regina Sampaio de Lemos
Livia Melo Villar
Luciane Almeida Amado Leon
Monick Lindenmeyer Guimarães
Sylvia Lopes Maia Teixeira
Vanessa Salete de Paula
Organizadoras

Tópicos em Virologia

Tópicos em Virologia

Elba Regina Sampaio de Lemos
Livia Melo Villar
Luciane Almeida Amado Leon
Monick Lindenmeyer Guimarães
Sylvia Lopes Maia Teixeira
Vanessa Salete de Paula
Organizadoras

Revisão
Allan Alves, Augusta Avalle, Irene Ernest Dias, Myllena Paiva

Normalização de referências
Clarissa Bravo

Capa, projeto gráfico e editoração
Carlota Rios

Redesenho/editoração de figuras
Heloisa Diniz

Produção editorial
Phelipe Gasiglia

Catalogação na fonte
Fundação Oswaldo Cruz
Instituto de Comunicação e Informação Científica e Tecnológica em Saúde
Biblioteca de Saúde Pública

T674t Tópicos em virologia / organizado por Elba Regina Sampaio de Lemos, *et al*. —
Rio de Janeiro : Editora Fiocruz, 2023.
7 MB : il. color. ; tab. (Coleção Bio)

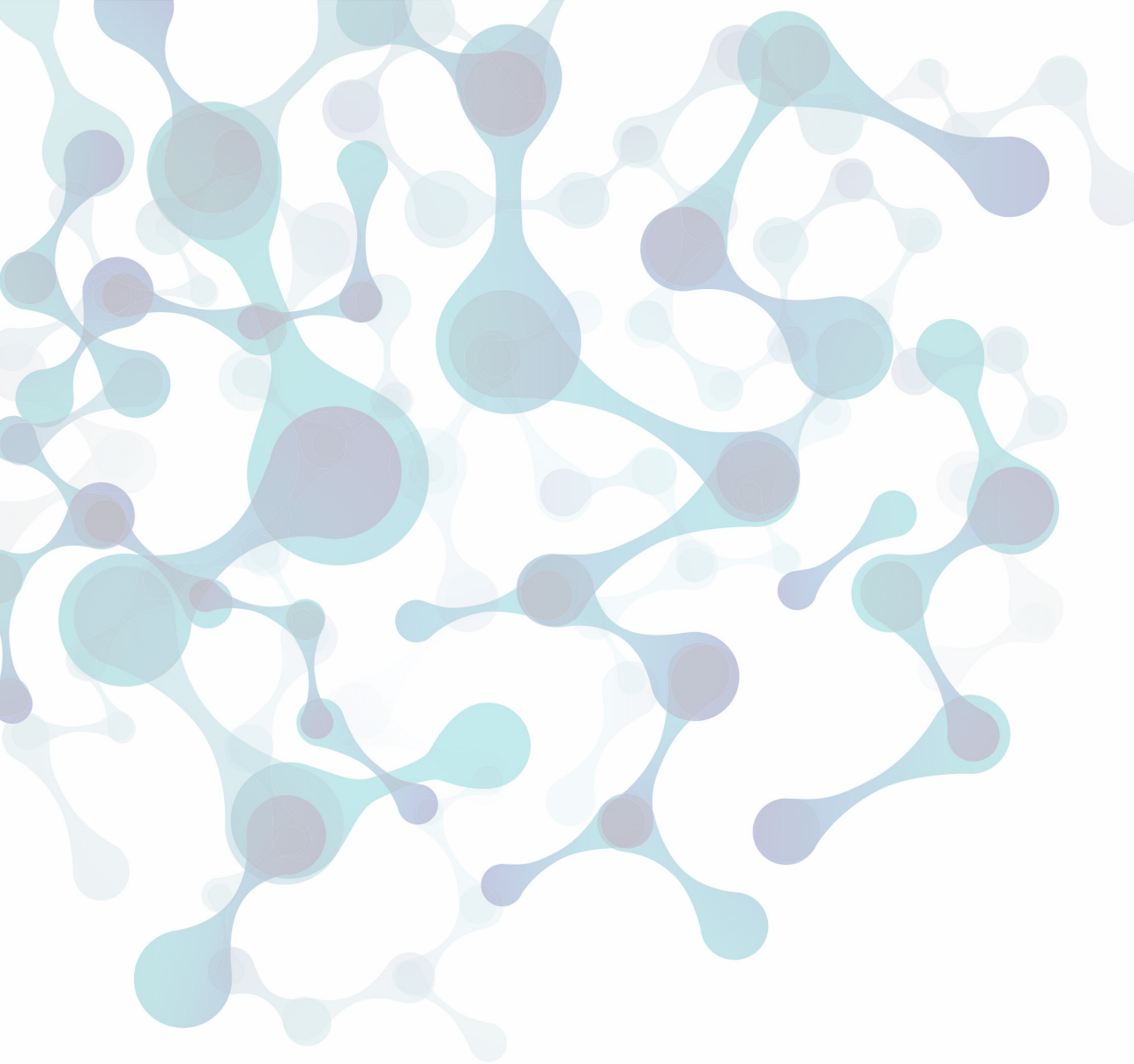
ISBN: 978-65-5708-151-8
Inclui Bibliografia
Link: https://books.scielo.org/fiocruz/

1. Virologia. 2. Viroses. 3. Zoonosis Virales. 4. Infecções por Arbovirus. 5. HIV. 6. COVID-19. 7. Hepatite Viral Humana. 8. Biossegurança. I. Lemos, Elba Regina Sampaio de (Org). II. Villar, Livia Melo (Org.). III. Leon, Luciane Almeida Amado (Org.). IV. Guimarães, Monick Lindenmeyer (Org.). V. Teixeira, Sylvia Lopes Maia (Org.). VI. Paula, Vanessa Salete de (Org.). VII. Título.

CDD - 23.ed. – 616.91

Glauce de Oliveira Pereira – Bibliotecária CRB 7/5642

2023
EDITORA FIOCRUZ
Av. Brasil, 4.036, térreo, sala 112
Campus Maré
Manguinhos
21.040-361 – Rio de Janeiro, RJ
(21) 3882-9039 | 3882-9041
editora@fiocruz.br
www.fiocruz.br/editora

@editorafiocruz
@editora_fiocruz
@editorafiocruz
@editorafiocruz

Editora filiada
Associação Brasileira
das Editoras Universitárias

Compartilhamos, vivemos e concretizamos este teu sonho.
Milton presente!

(Em memória de Milton Ozório Moraes,
que nos semeou um legado de ciência... e de afeto.)

Autores

Alexandre dos Santos da Silva

Biólogo, doutor em medicina tropical pelo Instituto Oswaldo Cruz da Fundação Oswaldo Cruz (IOC/Fiocruz); pós-doutorando no Laboratório de Desenvolvimento Tecnológico em Virologia do IOC/Fiocruz.

Ana Cláudia Pereira Terças Trettel

Enfermeira, doutora em medicina tropical pelo Instituto Oswaldo Cruz da Fundação Oswaldo Cruz, com pós-doutorado em ciência pela Universidade de São Paulo de Ribeirão Preto; professora adjunta da Universidade do Estado de Mato Grosso, *campus* de Tangará da Serra, e docente permanente do Programa de Pós-graduação em Saúde Coletiva da Universidade Federal de Mato Grosso, *campus* de Cuiabá.

Andreza Salvio Lemos

Biotecnóloga, doutora em biologia parasitária pelo Instituto Oswaldo Cruz da Fundação Oswaldo Cruz; pós-doutoranda no Laboratório de Neurociências Translacional da UniRio.

Arthur Daniel Rocha Alves

Biólogo, doutor em medicina tropical pelo Instituto Oswaldo Cruz da Fundação Oswaldo Cruz (IOC/Fiocruz); pós-doutorando no Laboratório de Desenvolvimento Tecnológico em Virologia do IOC/Fiocruz.

Bianca Cristina Leires Marques (*in memoriam*)

Bióloga, mestre em biologia parasitária pelo Instituto Oswaldo Cruz da Fundação Oswaldo Cruz.

Camilla Rodrigues de Almeida Ribeiro

Bióloga, doutora em biologia parasitária pelo Instituto Oswaldo Cruz da Fundação Oswaldo Cruz, com pós-doutorado no Laboratório de Neurofarmacologia do Comportamento da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio de Janeiro; servidora pública da Secretaria de Estado de Educação do Rio de Janeiro e da Secretaria Municipal de Educação de Araruama.

Caroline Pereira Bittencourt Passaes

Bióloga, doutora em biologia parasitária pelo Instituto Oswaldo Cruz da Fundação Oswaldo Cruz; pesquisadora associada do Instituto Pasteur (Paris, França).

Debora Regina Lopes dos Santos

Bióloga, doutora em biologia parasitária pelo Instituto Oswaldo Cruz da Fundação Oswaldo Cruz; professora associada do Departamento de Microbiologia e Imunologia Veterinária do Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

Diogo Gama Caetano

Biólogo, doutor em biologia parasitária pelo Instituto Oswaldo Cruz da Fundação Oswaldo Cruz (IOC/Fiocruz); pós-doutorando no Laboratório de Aids e Imunologia Molecular do IOC/Fiocruz.

Edson Oliveira Delatorre

Biólogo, doutor em biologia parasitária pelo Instituto Oswaldo Cruz da Fundação Oswaldo Cruz (IOC/Fiocruz); professor da Universidade Federal do Espírito Santo e coordenador do grupo de pesquisa em genômica evolutiva e ambiental na mesma instituição.

Elba Regina Sampaio de Lemos (organizadora)

Médica, doutora em medicina tropical pelo Instituto Oswaldo Cruz da Fundação Oswaldo Cruz (IOC/Fiocruz); pesquisadora titular em saúde pública do Laboratório de Hantaviroses e Rickettsioses do IOC/Fiocruz e coordenadora do Serviço de Referência Nacional para Rickettsioses e do Serviço de Referência Regional para Hantaviroses do Ministério da Saúde.

Eliane Veiga da Costa

Farmacêutica bioquímica, doutora em biologia celular e molecular pelo Instituto Oswaldo Cruz da Fundação Oswaldo Cruz (IOC/Fiocruz); membro da Câmara Técnica Nacional de Especialistas para Certificação da Erradicação da Poliomielite e Câmara Técnica de Revisão de Casos de Paralisias Flácidas Agudas/Pólio do Ministério da Saúde.

Fernanda de Oliveira Bottino

Médica veterinária, mestre em biologia parasitária pelo Instituto Oswaldo Cruz da Fundação Oswaldo Cruz (IOC/Fiocruz); professora pesquisadora da Escola Politécnica de Saúde Joaquim Venâncio da Fiocruz e doutoranda no Laboratório de Patologia do IOC/Fiocruz.

Fernando Tavares

Biólogo, doutor em biologia parasitária pelo Instituto Oswaldo Cruz da Fundação Oswaldo Cruz (IOC/Fiocruz); pesquisador titular em saúde pública do Instituto Evandro Chagas, em Belém do Pará.

Flávia Carolina de Paula Divino

Bióloga, mestre em biologia computacional e sistemas pelo Instituto Oswaldo Cruz da Fundação Oswaldo Cruz.

Flávia Freitas de Oliveira Bonfim

Bióloga, mestre em medicina tropical pelo Instituto Oswaldo Cruz da Fundação Oswaldo Cruz.

Geane Lopes Flores

Bióloga, doutora em medicina tropical pelo Instituto Oswaldo Cruz da Fundação Oswaldo Cruz (IOC/Fiocruz); pós-doutoranda no Laboratório de Vírus Respiratórios, Exantemáticos, Enterovírus e Emergências Virais do IOC/Fiocruz.

Gentil Arthur Lins Bentes Mendonça de Vasconcelos

Biomédico, doutor em biologia parasitária pelo Instituto Oswaldo Cruz da Fundação Oswaldo Cruz (IOC/Fiocruz); tecnologista em saúde pública do Laboratório de Desenvolvimento Tecnológico em Virologia do IOC/Fiocruz.

Helena Medina Cruz

Bióloga, doutora em medicina tropical pelo Instituto Oswaldo Cruz da Fundação Oswaldo Cruz; professora da Universidade Estácio de Sá.

Jaline Alves Cabral da Costa

Farmacêutica industrial e bioquímica, doutora em medicina tropical pelo Instituto Oswaldo Cruz da Fundação Oswaldo Cruz (IOC/Fiocruz); tecnologista em saúde pública do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde da Fiocruz.

Jéssica Vasques Raposo Vedovi

Bióloga, doutora em biologia parasitária pelo Instituto Oswaldo Cruz da Fundação Oswaldo Cruz; pesquisadora de pós-doutorado no Laboratório de Neurociências Translacional da UniRio.

Jorlan Fernandes de Jesus

Farmacêutico, doutor em medicina tropical pelo Instituto Oswaldo Cruz da Fundação Oswaldo Cruz (IOC/Fiocruz); pós-doutorando no Laboratório de Hantaviroses e Rickettsioses da Fiocruz.

Kerla Joeline Lima Monteiro

Médica veterinária, doutora em medicina tropical pelo Instituto Oswaldo Cruz da Fundação Oswaldo Cruz (IOC/Fiocruz); pesquisadora e coordenadora do Laboratório de Parasitologia Molecular da Fiocruz Piauí.

Letícia de Paula Scalioni

Biomédica, doutora em biologia parasitária pelo Instituto Oswaldo Cruz da Fundação Oswaldo Cruz (IOC/Fiocruz); pós-doutoranda no Laboratório de Vírus Respiratórios, Exantemáticos, Enterovírus e Emergências Virais da Fiocruz.

Liana Strecht Pereira

Bióloga, mestre em medicina tropical pelo Instituto Oswaldo Cruz da Fundação Oswaldo Cruz; professora da Secretaria Municipal de Educação do Rio de Janeiro e da Secretaria de Estado de Educação do Rio de Janeiro.

Livia Melo Villar (organizadora)

Biomédica, doutora em biologia parasitária pelo Instituto Oswaldo Cruz da Fundação Oswaldo Cruz (IOC/Fiocruz), com pós-doutorado em virologia pela Universidade de Sevilha; tecnologista em saúde pública do IOC/Fiocruz, chefe do Laboratório de Hepatites Virais da Fiocruz e coordenadora do Serviço de Referência Nacional Para Hepatites Virais do Ministério da Saúde.

Luciane Almeida Amado Leon (organizadora)

Biomédica, doutora em biologia parasitária pelo Instituto Oswaldo Cruz da Fundação Oswaldo Cruz (IOC/Fiocruz); pesquisadora em saúde pública da mesma instituição e chefe substituta do Laboratório de Desenvolvimento Tecnológico em Virologia do IOC/Fiocruz.

Lyana Rodrigues P. Lima Capobianco

Biomédica, doutora em medicina tropical pelo Instituto Oswaldo Cruz da Fundação Oswaldo Cruz; professora e coordenadora do curso de biomedicina da Universidade Estácio de Sá.

Márcia Paschoal do Espírito Santo

Bióloga, doutora em biologia parasitária pelo Instituto Oswaldo Cruz da Fundação Oswaldo Cruz (IOC/Fiocruz); analista em inovação e operações farmacêuticas do Instituto de Tecnologia em Imunobiológicos (Bio-Manguinhos) da Fiocruz e analista de qualidade da Seção de Validação de Processos do Laboratório de Metrologia e Validação da mesma instituição.

Maria da Penha Trindade Pinheiro Xavier

Bióloga, doutora em medicina tropical pelo Instituto Oswaldo Cruz da Fundação Oswaldo Cruz; tecnologista em saúde pública e gestora da qualidade e biossegurança do Laboratório de Virologia Comparada e Ambiental da mesma instituição, perita judicial do Tribunal de Justiça do Rio de Janeiro.

Monick Lindenmeyer Guimarães (organizadora)

Bióloga, doutora em biologia celular e molecular pelo Instituto Oswaldo Cruz da Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz); tecnologista sênior em saúde pública e chefe do Laboratório de Aids e Imunologia Molecular (Labaids) da Fiocruz.

Natália Maria Lanzarini

Biomédica, doutora em saúde pública e meio ambiente pela Escola Nacional de Saúde Pública Sérgio Arouca da Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz); pós-doutoranda no Laboratório de Virologia Comparada e Ambiental do Instituto Oswaldo Cruz da Fiocruz.

Natália Spitz Toledo Dias

Biomédica, doutora em biologia parasitária pelo Instituto Oswaldo Cruz da Fundação Oswaldo Cruz; pós-doutoranda na Agência Internacional de Pesquisa em Câncer da Organização Mundial da Saúde, na França.

Nathália Alves Araujo de Almeida

Bióloga, doutora em medicina tropical pelo Instituto Oswaldo Cruz da Fundação Oswaldo Cruz; responsável técnica de laboratórios de análises clínicas no Hospital Municipal da Mulher Mariska Ribeiro e ambulatório do Hospital Municipal da Piedade, ambos no Rio de Janeiro.

Nathalia Beatriz Ramos de Sá

Bióloga, doutora em biologia parasitária pelo Instituto Oswaldo Cruz da Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz); pós-doutoranda no Laboratório de Aids e Imunologia Molecular da Fiocruz.

Priscila da Silva Born

Bióloga, doutora em medicina tropical pelo Instituto Oswaldo Cruz da Fundação Oswaldo Cruz; consultora internacional da Organização Pan-Americana da Saúde.

Renata Tourinho Santos Cantinho Bricio

Bióloga, doutora em biologia parasitária pelo Instituto Oswaldo Cruz da Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz); analista em inovação e operações farmacêuticas do Instituto de Tecnologia em Imunobiológicos (Bio-Manguinhos) da Fiocruz e coordenadora da plataforma de PCR em Tempo Real do Laboratório em Tecnologia Virológica da mesma instituição.

Suwellen Sardinha Dias de Azevedo

Bióloga, doutora em biologia celular e molecular pelo Instituto Oswaldo Cruz da Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz); pós-doutoranda no Laboratório de Aids e Imunologia Molecular da Fiocruz.

Sylvia Lopes Maia Teixeira (organizadora)

Bióloga, doutora em biologia celular e molecular pelo Instituto Oswaldo Cruz da Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz); pesquisadora em saúde pública do Laboratório de Aids e Imunologia Molecular da Fiocruz.

Tatiana Prado

Bióloga, doutora em biologia parasitária pelo Instituto Oswaldo Cruz da Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz); pós-doutoranda no Laboratório de Genômica Funcional e Bioinformática da Fiocruz.

Thais Silva de Souza

Enfermeira, mestre em medicina tropical pelo Instituto Oswaldo Cruz da Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz); enfermeira do serviço de vigilância em saúde da Secretaria Municipal de Saúde do Rio de Janeiro e técnica de enfermagem em radiologia do Instituto Nacional de Saúde da Mulher, da Criança e do Adolescente Fernandes Figueira da Fiocruz.

Thaysse Cristina Neiva Ferreira Leite

Biomédica, doutora em biologia parasitária pelo Instituto Oswaldo Cruz da Fundação Oswaldo Cruz; professora e coordenadora do curso de biomedicina da Universidade Estácio de Sá.

Tulio Machado Fumian

Farmacêutico, doutor em biologia celular e molecular pelo Instituto Oswaldo Cruz da Fundação Oswaldo Cruz; tecnologista em saúde pública do Laboratório de Virologia Comparada e Ambiental da mesma instituição e coordenador do Centro de Referência Regional em Rotavírus do Ministério da Saúde.

Vanessa Salete de Paula (organizadora)

Bióloga, doutora em biologia parasitária pelo Instituto Oswaldo Cruz da Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz), com pós-doutorado em virologia pela Bernhard Nocht Institute for Tropical Medicine (BNI, Alemanha) e pela Agência Internacional de Pesquisa em Câncer da Organização Mundial da Saúde (IARC, França); pesquisadora em saúde pública da Fiocruz, chefe adjunta do Laboratório Virologia e Parasitologia Molecular e coordenadora do curso de pós-graduação em medicina tropical, ambos da Fiocruz.

Sumário

Prefácio

Incluindo os principais aspectos da virologia humana em um contexto de saúde global (homem-animal-meio ambiente-saúde), esta obra é fruto de três cursos que foram ministrados no âmbito dos Cursos de Férias no Instituto Oswaldo Cruz da Fundação Oswaldo Cruz (IOC/Fiocruz): "Metodologias aplicadas ao estudo das infecções virais", "Viroses emergentes e reemergentes e de potencial epidemiológico: uma abordagem atual sobre a importância da pesquisa na saúde pública" e "HIV: aspectos virológicos e genética do hospedeiro".

Os cursos de férias constituem uma iniciativa que consagra e evidencia a importância da relação sincrônica, simbiótica, construtiva e inovadora de docentes e discentes dos Programas de Pós-Graduação (PPGs) do IOC com os alunos de cursos de graduação de universidades públicas e privadas do Brasil. Uma experiência fundamental para consolidar e fortalecer os PPGs e abrir janelas de oportunidades para os alunos de graduação, uma vez que conseguem, dessa forma, ter contato e conhecimento mais próximos com os docentes e discentes dos PPGs e com as atividades de pesquisa que são desenvolvidas no IOC/Fiocruz.

O volume contém nove capítulos escritos por discentes, com a supervisão de docentes e coordenadores de disciplinas do PPG do IOC/Fiocruz,

os quais abordam de maneira inovadora tópicos de grande relevância. A ideia é contribuir para o conhecimento científico e para a compreensão de fenômenos relacionados à virologia, assim como descrever a essência e a necessidade de integração homem-animal-meio ambiente-saúde. Os diferentes capítulos abordam aspectos relacionados a: biossegurança, diagnóstico, características gerais dos vírus, epidemiologia, viroses emergentes, prevenção, entre outros aspectos, além de comentários sobre momentos difíceis pelos quais temos sido confrontados em nossas atividades cotidianas.

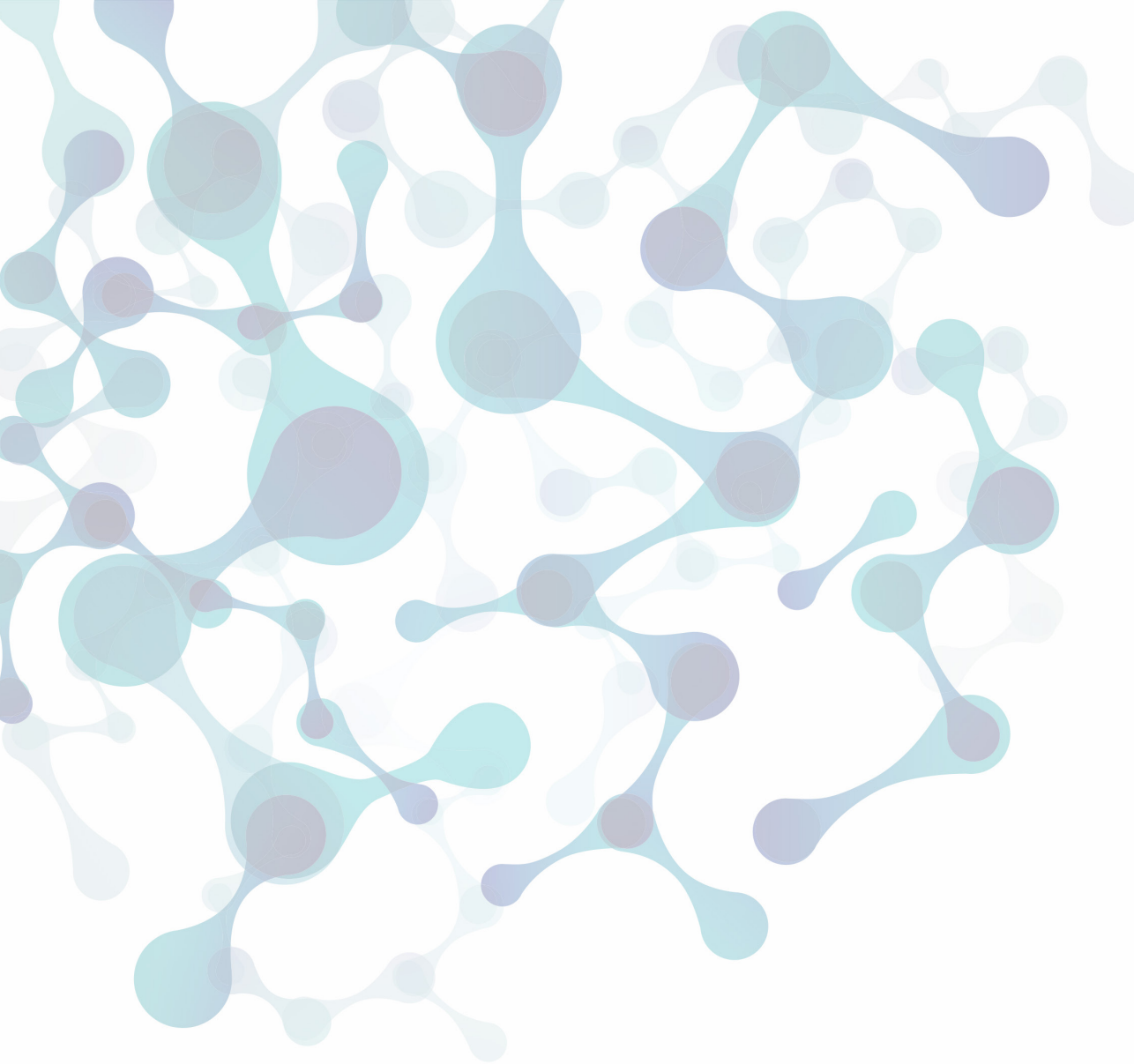
O IOC e a Fiocruz completaram 120 anos no dia 25 de maio de 2020. Em uma linha do tempo (Figura 1) podemos observar, desde a nossa origem até o presente momento, as inúmeras contribuições do IOC/Fiocruz para a saúde pública, nos planos nacional e internacional. Um marco importante foi a criação do Curso de Aplicação de Manguinhos, que pode ser considerado uma inovação na educação, na ciência brasileira e no início da pós-graduação no Brasil.

Superamos muitos desafios em saúde pública, que hoje são distintos daqueles do início do século XX, considerando que, em um atual sistema econômico globalizado, a distância física entre países e continentes vem sendo superada pelos avanços tecnológicos dos transportes e por um mundo e uma sociedade cibernética. As epidemias das arboviroses, a pandemia de HIV-1/aids e, chegando a 2020, a sindemia da covid-19, fizeram com que nossa geração enfrentasse uma situação inusitada. O momento ainda exige a consolidação de ações sinérgicas e solidárias, tanto no aspecto científico quanto humanitário. Essa sindemia provoca reflexões importantes sobre os aspectos de um sistema econômico globalizado. Além disso, coloca em evidência a importância e a necessidade de se respeitarem as relações homem-animal-meio ambiente-saúde.

Figura 1 – Linha do tempo das contribuições do IOC e da Fiocruz para a saúde pública

Legenda: ISF- Instituto Soroterápico Federal; IPE- Instituto de Patologia Experimental de Manguinhos; MIOC- Memórias do Instituto Oswaldo Cruz.

O Brasil apresenta, entre tantas, algumas características muito particulares: rica biodiversidade, maior extensão de florestas dedicadas à conservação dessa biodiversidade e uma das maiores reservas de água doce do planeta. Consequentemente, nós, brasileiros, temos grande responsabilidade sobre as mesmas e obrigação de ampliar, cada vez mais, as ações voltadas para uma saúde global, mitigando diferenças intra e entre regiões, reduzindo os riscos de emergência e disseminação de doenças infecciosas resultantes da interface entre animais, seres humanos, ecossistemas e saúde. Ou seja, é imprescindível alcançarmos um desenvolvimento sustentável, respeitando um plano de ação para as pessoas, para o planeta e para a prosperidade, conforme a *Agenda 2030* das Nações Unidas.

Nesse contexto, os vírus são importantes agentes de doenças emergentes e reemergentes, uma vez que não ocupam de forma conservadora nenhum nicho ecológico específico e permanente. Pelo contrário, em razão de sua capacidade intrínseca de apresentar diferentes mecanismos evolutivos, têm potencial para parasitar espécies hospedeiras alternativas. Considerando as doenças infecciosas da etiologia viral descritas neste livro, a integração entre saúde humana, sanidade animal e meio ambiente impulsiona novos desafios para todos nós, principalmente em recursos humanos qualificados que podem gerar conhecimentos inéditos sobre novas abordagens multidisciplinares e pesquisas translacionais relacionadas à biodiversidade e às multiplicidades econômicas, sociais, étnicas e geográficas, tendo em vista a manutenção de ecossistemas saudáveis para um desenvolvimento econômico e social mais justo, responsável e sustentável de nosso país.

As conquistas da Assembleia Nacional Constituinte de 1988 foram imensas para a população brasileira, particularmente pela implantação do Sistema Único de Saúde amplo e universal. A introdução do Programa Nacional de Imunizações (PNI) reduziu e até eliminou doenças de etiologia viral contempladas em capítulos deste livro. Apesar dessas importantes conquistas, enfrentamos novos desafios, especialmente aqueles relacionados aos grupos antivacinas e às emergências sanitárias, com a necessidade de desenvolvimento de novas vacinas. Deve-se enfatizar que

as coberturas vacinais outrora alcançadas são hoje um grande desafio para o PNI, visto que doenças imunopreveníveis anteriormente controladas começam a emergir em razão das baixas coberturas vacinais, principalmente nas regiões Norte, Nordeste e Centro-Oeste. Além dos vírus da dengue e da febre amarela, emergiram e tiveram dispersão pandêmica os vírus chicungunha, zika e, recentemente, o *monkeypox*. Nesse contexto, devem ser destacadas as contribuições originais e cientificamente robustas da comunidade científica brasileira.

Esperamos que esta publicação seja a catalisadora de novas iniciativas que valorizem cada vez mais os docentes e discentes dos PPG do Instituto e contribua para a formação de novas gerações de pesquisadores e professores engajados no desenvolvimento da ciência e na formação da cidadania.

José Paulo Gagliardi Leite

Pesquisador em saúde pública do Laboratório de Virologia Comparada e Ambiental do Instituto Oswaldo Cruz da Fundação Oswaldo Cruz (IOC/Fiocruz), ex-diretor do IOC/Fiocruz (2017-2021)

Apresentação

A pandemia de covid-19 veio destacar a importância crucial do estudo da virologia, uma vez que a emergência e a reemergência de viroses representam uma ameaça tanto para a saúde humana quanto para a animal. Como importantes coadjuvantes no processo de evolução da espécie humana, os vírus, muito antes de serem identificados como agentes infecciosos, interferem na história humana desde tempos primordiais, alterando constantemente o cenário da saúde global. Nesse contexto, ler sobre o tema virologia torna-se incontornável e fundamental para aqueles que desejam atuar nas interfaces entre os campos das ciências da saúde e das ciências biológicas, ou que desejam compreender mais profundamente o complexo mundo viral – denominado virosfera – onde nós, *Homo sapiens*, não somente somos infectados, como também temos mais de 60% do nosso genoma constituído por sequências virais.

Uma parte desse mundo viral fascinante e imprevisível encontra-se aqui. O material foi idealizado e elaborado orginalmente como apostilas pelos alunos dos Programas de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Biologia Celular e Molecular (PGBCM), em Biologia Computacional e Sistemas (PGBCS), em Biologia Parasitária (PGBP) e em Medicina Tropical (PGMT) do Instituto Oswaldo Cruz (IOC) da Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz), durante os cursos de verão e inverno realizados como disciplinas eletivas sob a coordenação de docentes desses programas.

Esta obra, construída por discentes e docentes do IOC, é constituída por nove capítulos que fornecem conceitos, definições e informações diversas e articuladas acerca da virologia humana. Foi preparada com a preocupação central de que possa ser um importante instrumento na transmissão de conhecimento, partindo da perspectiva de que o estudo da virologia ainda é um imenso desafio para a maioria dos estudantes de graduação, o nosso público-alvo.

No capítulo 1, apresentamos um breve histórico da virologia, desde as fundamentais contribuições de Adolf Mayer, Dimitri Ivanovski e Martinus Beijerinck, passando pela primeira identificação de um vírus causador de doença humana, em 1901 – o vírus da febre amarela –, até fatos históricos relevantes que impulsionaram o conhecimento virológico, como a criação do primeiro microscópio eletrônico – que permitiu a caracterização de uma variedade de estruturas e da composição dos vírus – e o desenvolvimento de procedimentos que viabilizaram cultivos celulares *in vitro*. Em sequência, mostramos as classificações e as nomenclaturas estabelecidas pelo Comitê Internacional de Taxonomia de Vírus (ICTV), além de informações sobre os aspectos morfológicos e as propriedades virais, a replicação viral e de seu genoma, assim como a expressão gênica.

No capítulo 2, questões relacionadas aos aspectos imunológicos são apresentadas sucintamente com o objetivo de auxiliar o leitor na compreensão dos capítulos que compõem este livro. Discorremos sobre diversas técnicas diagnósticas utilizadas no campo da virologia, destacando suas aplicações, vantagens e limitações, chamando a atenção para a importância do laboratório na tomada de decisões dos profissionais da saúde quanto ao manejo do paciente e aos estudos de vigilância epidemiológica. Apresentamos – além do diagnóstico clássico das infecções virais, como o isolamento viral –, o diagnóstico sorológico, com as diferentes técnicas disponíveis, dos testes de neutralização aos testes automatizados por quimioluminescência. Nesse capítulo, encontram-se também informações detalhadas sobre as principais técnicas de biologia molecular utilizadas que vêm substituindo métodos convencionais de detecção viral. Por fim, diante das diversas vantagens relacionadas às técnicas moleculares, quando comparadas com outros métodos diagnósticos virológicos, o leitor terá a

possibilidade de conhecer as inúmeras aplicações dos testes moleculares no esclarecimento das infecções virais, na pesquisa científica e na rotina clínica de hospitais e de bancos de sangue.

No capítulo 3, além de introduzirmos a conceituação sobre viroses emergentes e reemergentes, apresentamos os principais fatores relacionados à emergência e reemergência viral, fornecendo uma reflexão complexa e articulada acerca do tema, em associação com a definição de Saúde Única (*One Health*). Além da aids – uma doença de origem zoonótica, ocasionada por um vírus que se estabeleceu na população humana –, são abordadas as viroses causadas pelos hantavírus, arenavírus, poxvírus e o vírus da raiva. Ponderamos que o aumento dessas viroses, nas últimas décadas, reforça a percepção de que a integração da saúde humana com a animal e a ambiental faz-se necessária em todas as regiões do mundo. Não são apresentadas as viroses emergentes e reemergentes causadas por vírus transmitidos por via respiratória, nem as arboviroses, já que estão descritas em seus respectivos capítulos.

No capítulo 4, apresentamos os principais vírus transmitidos por via respiratória de importância médica: os vírus influenza, coronavírus e o vírus sincicial respiratório, além dos rinovírus, vírus parainfluenza e metapneumovírus. Optamos por apresentar também uma breve revisão sobre os vírus do sarampo, da rubéola, da parotidite epidêmica (caxumba) e da varicela, levando em conta que, embora não sejam considerados respiratórios, são agentes virais propagados por meio das secreções das vias respiratórias.

No capítulo 5, tratamos dos vírus transmitidos pelas vias parenteral e/ou sexual, geradores de graves implicações à saúde pública no Brasil e no mundo. São apresentados os vírus da imunodeficiência humana, o vírus linfotrópico de células T humanas, os vírus das hepatites B e C, o papilomavírus humano e o herpesvírus. Há, ainda, informações relacionadas ao agente viral, às formas de transmissão, à patogenia, às manifestações clínicas, assim como questões referentes ao diagnóstico virológico e à epidemiologia, com ênfase na situação do Brasil. Oportunamente, abordamos o papel de alguns desses vírus no campo da oncovirologia, com

ênfase no papilomavírus que, além de ser a causa mais comum de infecção sexualmente transmissível no mundo, é responsável por 99% dos casos de câncer do colo uterino.

No capítulo 6, são abordadas as doenças virais transmitidas por veiculação hídrica, como os enterovírus e os vírus causadores das hepatites A e E, bem como os vírus responsáveis por até 75% de todas as diarreias de origem infecciosa: rotavírus, norovírus, astrovírus humanos e adenovírus, que acometem principalmente populações nos países com saneamento básico precário. De forma oportuna, procuramos salientar a importância da vacinação, especialmente em relação à poliomielite, cujo controle efetivo vem sendo ameaçado diante da redução do índice de cobertura vacinal no Brasil e no mundo. Por fim, apontamos os novos vírus emergentes causadores de gastroenterite, como os bocavírus, vírus Aichi, salivírus, cosavírus e vírus Saffold, mais recentemente detectados em estudos de metagenômica.

No capítulo 7, sobre as arboviroses, discutimos um dos mais complexos tópicos no campo da virologia. Estão descritas as famílias e a distribuição regional dos principais arbovírus que circulam no território brasileiro, considerando que a maioria tem muita semelhança em relação à epidemiologia, aos ciclos de transmissão em ambientes urbanos e ao início dos sinais clínicos. Assim, embora diversos arbovírus sejam tidos como importantes agentes causadores de infecções nas populações humanas, abordamos com mais ênfase aquelas transmitidas por mosquitos, como os vírus da chicungunha, da dengue, da febre amarela e da zika, que têm gerado impacto crescente em saúde pública no mundo.

No capítulo 8, apresentamos informações quanto aos princípios básicos que devem nortear a realização de qualquer procedimento dentro de um laboratório de pesquisa ou de saúde pública, garantindo a segurança do profissional e do ambiente, assim como a confiabilidade dos resultados obtidos. São tematizados tópicos como agentes de risco, níveis de biossegurança dos laboratórios, princípios de contenção e de precaução. Alertamos sempre para o risco de adoecimento dos profissionais que atuam na pesquisa, no ensino ou em atividades assistenciais ou de vigilância epidemiológica, em

decorrência da exposição a agentes infecciosos, químicos ou radioativos, tanto no contexto de saúde pública quanto no de saúde animal.

No capítulo 9, expomos os mais relevantes aspectos relacionados à prevenção, ao tratamento e ao controle das principais viroses humanas. As informações foram organizadas de acordo com os mecanismos de transmissão e a disponibilidade de vacinas e de medidas que possibilitem, por exemplo, o controle vetorial no caso das arboviroses, ou a minimização da transmissão de vírus respiratórios por meio da instituição de procedimentos não farmacológicos – como a higienização das mãos, o uso de máscaras e a conduta conhecida como etiqueta respiratória. Em adição, tendo em vista toda a complexidade existente no processo do conhecimento, da detecção, do controle e da prevenção das infecções virais, no último capítulo apresentamos também uma abordagem sobre a necessidade de se considerar a vigilância em saúde ambiental, visando ao fortalecimento de ações de promoção e proteção das saúdes humana e animal, reforçando que precisamos estar preparados para as próximas viroses, emergentes e reemergentes.

Ressaltamos que, ao fim de cada um dos nove capítulos, estão dispostas as bibliografias consultadas/sugeridas. Ao longo do livro, disponibilizamos a definição de termos eventualmente menos conhecidos.

Este livro não tem a pretensão de ser abrangente, visto que o tema virologia é extremamente vasto e engloba, além das ciências biomédicas e da medicina humana e veterinária, a biologia molecular, a história e as ciências sociais em um contexto socioeconômico, ambiental, cultural e político que, interligados, tornam a abordagem altamente complexa e inesgotável. Fica evidente que a maioria das doenças emergentes e reemergentes é de origem zoonótica e que a etiologia viral é a maior responsável pelas grandes epidemias e pandemias – como as dos vírus da influenza e da covid-19. Com isso, foi possível mostrar, no conjunto da obra, a importância e a necessidade do contínuo apoio às políticas de ciência, tecnologia e inovação no Brasil, haja vista a indissociabilidade entre as saúdes humana, animal e ambiental.

Desejamos que o leitor aproveite todos os conteúdos e as abordagens apresentadas. Esperamos que todos, ao terem acesso às informações dis-

postas, possam responder ao convite para explorar o universo da virologia, promovendo a ciência e acelerando a geração e a difusão de conhecimento e inovação no Brasil, com a promoção da saúde em seu sentido mais amplo.

Agradecemos ao editor executivo João Canossa, à equipe da Editora Fiocruz, aos pareceristas e aos revisores pelo cuidadoso e minucioso trabalho de revisão do texto e pelas sugestões. Essas contribuições foram essenciais para aprimorar cada capítulo deste livro.

As organizadoras

1

Propriedades Gerais dos Vírus

Alexandre dos Santos da Silva • Edson Oliveira Delatorre • Luciane Almeida Amado Leon • Suwellen Sardinha Dias de Azevedo • Thaysse Cristina Neiva Ferreira Leite • Vanessa Salete de Paula

História da Virologia

Os vírus são parasitos intracelulares obrigatórios e dependem de uma célula para se propagar. Assim, para perpetuação e circulação desses agentes no ambiente, um ser vivo deve transmiti-los a outro da mesma espécie ou não (intra ou interespécie). Um dos aspectos mais importantes para manutenção de populações virais, portanto, é a densidade populacional de hospedeiros.

Desde as primeiras evidências da existência de agrupamentos humanos, há indícios da ocorrência de infecções virais e de estratégias utilizadas para combatê-las, mesmo antes do conhecimento dos vírus como agentes etiológicos. De fato, os vírus vêm influenciando há milhões de anos a evolução da espécie humana e passaram a conviver com ela de forma indissociável desde que os hábitos nômades foram substituídos pela formação de comunidades assentadas, com domesticação de animais e produção agrícola.

As medidas sanitárias aplicadas à prevenção de viroses datam da época das grandes civilizações, como as da Mesopotâmia (região onde atualmente está a maior parte do Iraque e Kuwait), em que a responsabilidade pelos

animais raivosos era de seus proprietários, sujeitos a sanções rígidas que incluíam a pena de morte.

O registro de sequelas das doenças virais pode ser observado em poesias, na arte e nas descrições históricas, como hieróglifos egípcios. Não só a espécie humana, mas também as plantas eram afetadas pelas infecções virais. O químico alemão Adolf Mayer (1876), estudando a doença do mosaico do tabaco, observou que ela podia ser reproduzida em plantas saudáveis inoculadas com o sumo de plantas doentes, demonstrando seu caráter infeccioso. O passo mais importante para história da virologia foi dado, posteriormente, pelo biólogo russo Dimitri Ivanovski (1892), que realizou a filtragem daquele sumo e comprovou que a doença não era de causa bacteriana. E em 1898, o microbiologista holandês Martinus Beijerinck deu um passo adiante, demonstrando que a infecciosidade do sumo de plantas doentes permanecia após diluição seriada, o que excluiu na época a possibilidade de o agente ser uma toxina bacteriana.

Causada pelo vírus do mosaico do tabaco (TMV, sigla em inglês para *tobacco mosaic virus*), que infecta plantas, ocasionando declínio na taxa de crescimento e na frutificação do vegetal, além de manchas esverdeadas ou amareladas nas folhas, com padrão de mosaico.

Uma segunda importante característica foi constatada por Martin Beijerink: a capacidade infecciosa dos vírus era observada somente em tecidos vivos e não em meios sintéticos. Ou seja, era necessário um sistema vivo para sua reprodução. Outra característica era a impossibilidade de observação desses agentes filtráveis por microscopia óptica, amplamente utilizada na bacteriologia. Com o surgimento de técnicas para estudos de proteínas, na década de 1920, experimentos voltados para os vírus foram intensificados. Na técnica de eletroforese (migração de proteínas submetidas a campo magnético), percebeu-se que esses agentes se comportavam bioquimicamente da mesma forma que as proteínas.

O microscópio eletrônico, criado em 1930, permitiu a caracterização de uma variedade de estruturas e da composição dos vírus. Em 1937, o vírus do mosaico do tabaco foi cristalizado e, por meio da microscopia eletrônica, observou-se pela primeira vez que tais agentes se assemelhavam a sólidos geométricos.

Entre 1948 e 1955, desenvolveu-se uma série de procedimentos (meios para cultivo celular, com a possibilidade de inclusão de antibióticos) que

proporcionaram o estabelecimento de cultivos celulares *in vitro*. Em 1949, Enders, Weller e Robbins conseguiram, de forma pioneira, propagar o poliovírus em vários tipos celulares, recebendo por tal feito o Prêmio Nobel de Medicina em 1954. Esses eventos solidificaram a virologia como uma ciência de laboratório.

Classificação Internacional dos Vírus

As classificações e nomenclaturas propostas para os vírus foram estabelecidas em 1973, quando foi criado o Comitê Internacional de Taxonomia de Vírus (ICTV). Esse Comitê organiza até hoje os vírus em níveis hierárquicos baseados em suas propriedades estruturais, como morfologia, características físico-químicas, componentes bioquímicos, topologia do genoma e estratégias de replicação.

A classificação dos vírus pauta-se em características genéticas e bioquímicas. Inicialmente, muitos dos vírus classificados estavam relacionados a doenças humanas ou animais. Entretanto, com o surgimento das metodologias de sequenciamento, tem sido revelada uma grande variedade de outros grupos de vírus, incluindo aqueles que não causam doenças ou os que infectam invertebrados. Como resultado desses avanços, o ICTV mudou seu código para permitir uma hierarquia de classificação de 15 posições que se alinha estreitamente ao sistema taxonômico de Lineu.

Atualmente, o ICTV classifica os vírus em domínio, subdomínio, reinos, sub-reino, filos, subfilos, classes, subclasses, ordens, subordens, famílias, subfamílias, gêneros, subgêneros e espécies (Quadro 1). A classificação completa com as atualizações pode ser consultada na página do ICTV (<https://talk.ictvonline.org>).

Normalmente, podem ser utilizadas as nomenclaturas oficial ou vernacular, conforme detalhado a seguir:

- Nomenclatura oficial de família, subfamília e gênero: primeira letra maiúscula, em *itálico* ou sublinhado. Exemplo: Família *Picornaviridae* ou <u>Picornaviridae.</u>

- Nomenclatura vernacular: uso informal na fonte Times New Roman. Exemplo: A família picornaviridae.

Os vírus podem também ser agrupados de acordo com suas características epidemiológicas, no entanto essa classificação não tem valor taxonômico (exemplos: arbovírus, hepatites virais, gastroenterites virais etc.).

Quadro 1 – Nomenclaturas utilizadas na taxonomia e classificação viral

Domínio	*Viria*
Subdomínio	*Vira*
Reino	*Virae*
Subreino	*Virites*
Filo	*Viricota*
Subfilo	*Viricotina*
Classe	*Viricetes*
Subclasse	*Viricetidae*
Ordem	*Virales*
Subordem	*Virineae*
Família	*Viridae*
Subfamília	*Virinae*
Gênero	*Virus*
Subgênero	*Virus*
Espécie	*Virus*

Fonte: Comitê Internacional de Taxonomia de Vírus (ICTV) <https://talk.ictvonline.org/information/w/faq/386/how-to-write-virus-and-species-names>.

Definição e Propriedades Gerais dos Vírus

Vírion é o nome dado à partícula viral completa e infecciosa, composta de molécula de ácido nucleico (DNA ou RNA), protegida externamente por uma estrutura proteica denominada de capsídeo. Alguns vírus apresentam uma estrutura membranosa, externa ao capsídeo ou nucleocapsídeo, chamada de envelope. Essas estruturas externas garantem a proteção do genoma e sua perpetuação por infecções sucessivas nas células hospedeiras e entre hospedeiros.

Partícula viral completa, ou seja, infecciosa. Constitui a forma infectiva do vírus.

Estrutura proteica presente na partícula viral que protege o seu material genético.

De modo geral, os vírus apresentam as seguintes propriedades:

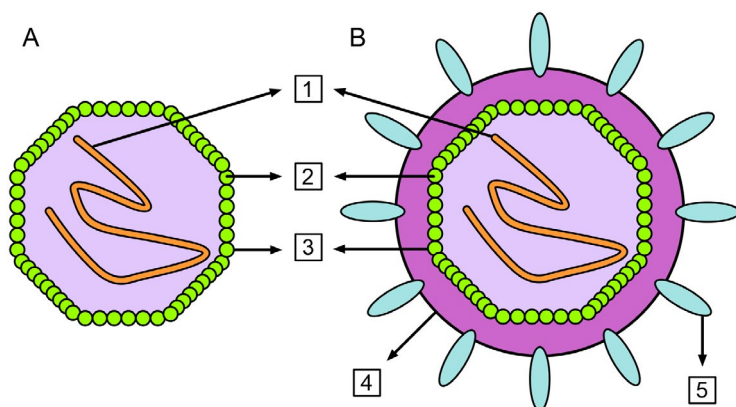
- São menores que a maioria das bactérias e medem de 20 nm (ex.: parvovírus) a 1.000 nm (ex.: pandoravírus), aproximadamente. São visualizáveis em microscópio eletrônico e na microscopia óptica[1] e podem ser filtráveis em filtros esterilizantes (0,22 µm) (exceto os vírus gigantes).
- Não são capazes de replicar-se no ambiente externo da célula.
- São parasitos intracelulares obrigatórios, portanto somente cultiváveis em sistemas vivos, pois necessitam de metabolismo celular ativo.
- Seu genoma é composto de apenas um tipo de ácido nucleico (DNA ou RNA), e sua estrutura é formada por proteínas, glicoproteínas ou glicolipídios.
- Não se multiplicam por divisão binária.
- Seu crescimento em cultura celular ocorre de forma logarítmica na base 10, diferentemente das bactérias.

[1] Em 2010 e 2011, as descobertas dos mimivírus e os megavírus foram uma surpresa para a comunidade científica. Esses vírus, com tamanho médio de 750 nm e genoma com cerca de 1,3 Mb a 2 Mb, foram considerados os maiores já descritos. Tal dado invalidou o conceito de que os vírus não pudessem ser observados pela microscopia óptica (microscopia diferencial de contraste de interferência ou Normarski óptico) e de que são filtravéis em filtros de Chamberland (porcelana).

Morfologia dos Vírus

A unidade proteica estrutural do capsídeo é chamada de protômero. Na montagem da partícula, os protômeros agrupam-se em capsômeros, que, por sua vez, agrupam-se em capsídeos. Os capsídeos são compostos de muitas cópias de uma ou poucas proteínas (Figura 1). O arranjo de subunidades proteicas e a forma como os capsômeros se agrupam definem a composição e a simetria do capsídeo viral. Existem três possíveis simetrias do capsídeo viral: icosaédrica, helicoidal e complexa. Essa organização tem por objetivo proteger o material genético e oferecer rigidez "energeticamente econômica" aos vírus. A simetria icosaédrica, como o nome sugere, lembra um sólido geométrico, com tamanhos bastante variados (ex.: vírus da poliomielite). A forma helicoidal é semelhante a um cilindro ou a um tubo, no qual as proteínas do capsídeo interagem diretamente com o material genético viral (ex.: vírus do mosaico do tabaco). Exemplos de capsídeos de simetria complexa são aqueles apresentados pelos bacteriófagos lambda ou T4 e pelos poxvírus.

O genoma viral pode ser composto de DNA ou RNA. Ambas as moléculas podem ser de fita simples ou dupla. No caso dos vírus de genoma RNA, em sua maioria de fita simples, esse filamento pode ter polaridade positiva (mesmo sentido do mRNA) ou negativa (sentido inverso ao mRNA). O genoma RNA pode também ser segmentado. O envelope, originado da membrana da célula hospedeira, tem composição fosfolipídica, e está associado a proteínas codificadas pelo vírus.

Figura 1 – Esquema de estrutura viral (tipo icosaédrica)

Legenda: A – partícula viral não envelopada; B – partícula viral envelopada; 1 – genoma; 2 – capsídeo; 1+2 – nucleocapsídio; 3 – capsômeros (unidades proteicas); 4 – envelope; 5 – espículas (glicoproteínas ou lipídeos); em roxo – matriz (superfície interna do envelope).

Multiplicação Viral

Para que um vírus se multiplique, ele precisa se ligar a uma célula suscetível e em seguida utilizar a sua maquinaria metabólica, pois o genoma viral tem somente uma pequena parte dos genes necessários para síntese de novos vírus. Mecanismos de sobreposição gênica para síntese de poliproteínas, mudanças de fase de leitura das regiões abertas de leitura (ORFs, sigla em inglês para *open reading frames*) e supressão de códons de parada são alguns dos mecanismos empregados como estratégias de replicação de diversos vírus que garantem a síntese de todas as proteínas necessárias. Uma vez estabelecida a infecção, a partícula viral infectante, após multiplicação, pode originar até milhares de novas partículas virais, parte delas com capacidade de reiniciar o ciclo de multiplicação viral em outra célula hospedeira para, eventualmente, serem excretadas e infectarem outros hospedeiros.

Sequências de três bases nitrogenadas do RNA mensageiro (UAA, UAG e UGA) que sinalizam o fim do processo de tradução, ou seja, o término da síntese proteica.

A seguir, listamos alguns conceitos essenciais para a compreensão do mecanismo de multiplicação viral:

- infecção produtiva – quando ocorre a produção de progênie viral viável (vírions);
- infecção abortiva – quando o ciclo replicativo não é concluído, em razão de fatores virais ou celulares;
- suscetibilidade – capacidade das células hospedeiras de serem infectadas, em razão da disponibilidade de receptores apropriados para a adsorção da partícula viral;
- permissividade – capacidade das células hospedeiras de viabilizar a multiplicação viral (uma célula permissiva pode não ser suscetível e vice-versa);
- receptores celulares – são proteínas, glicoproteínas ou resíduos de carboidratos, que reconhecem o ligante viral permitindo a entrada do vírus na célula.

O mecanismo básico de multiplicação viral é semelhante em todos os vírus e ocorre em estágios diferentes: adsorção, internalização ou penetração, desencapsidação ou desnudamento, expressão gênica e replicação do genoma, morfogênese/maturação e liberação (Figura 2):

1. Adsorção – consiste na ligação específica de proteínas ou glicoproteínas virais (ligantes) a receptores celulares e, em alguns casos, também a correceptores. Os ligantes virais estão presentes no capsídeo ou, no caso dos vírus envelopados, representam as glicoproteínas que se projetam do envelope. A especificidade de cada vírus para determinado tipo celular do hospedeiro é definida pela natureza dos ligantes virais e dos receptores celulares. Os receptores celulares são definidos como proteínas de superfície celular que se ligam diretamente ao vírion. Em alguns casos, os vírus podem entrar na célula quando complexados com anticorpos neutralizantes específicos. Isso ocorre porque algumas células contam com receptores de imunoglobulinas em sua superfície, levando à fagocitose do complexo antígeno-anticorpo neutralizante. Dessa forma, o vírus consegue iniciar a infecção celular.
2. Internalização ou penetração – após a ligação aos receptores celulares, os vírus são internalizados ou penetram na célula. Essa etapa de

internalização consiste em uma transferência do genoma viral ou do nucleocapsídio para dentro da célula. Em resumo, a internalização pode ocorrer de duas maneiras: fusão direta ou endocitose (Figura 3).

- Na fusão direta, os vírus envelopados unem diretamente o seu envelope (bicamada lipídica) com a membrana celular por um processo que é conduzido por glicoproteínas virais localizadas na superfície do vírus, possibilitando a liberação do genoma viral para o interior da célula. No caso de alguns vírus não envelopados, o genoma viral é translocado para dentro da célula, ao passo que o restante da partícula viral permanece no meio extracelular.
- Na endocitose, com a alteração do pH, os vírus envelopados fusionam o envelope viral com a membrana da vesícula endocítica, e, assim, o capsídeo viral com o genoma é liberado no citoplasma. Por sua vez, com alguns vírus não envelopados, o genoma viral é translocado para dentro da célula após a lise da vesícula endocítica, em um processo que pode depender ou não do pH, de acordo com o tipo de vírus.

3. Desnudamento ou desencapsidação – o desnudamento consiste na separação do genoma viral de seu capsídeo. Em alguns vírus não envelopados, como os picornavírus e poliovírus, essa etapa ocorre concomitantemente à penetração viral na célula. No entanto, alguns vírus envelopados introduzem na célula seus complexos nucleoproteicos e, portanto, necessitam que ocorra uma série de etapas de lise proteica para a desmontagem do nucleocapsídio.
4. Biossíntese ou replicação – na etapa de biossíntese ocorre a formação de novas cópias do genoma viral e a síntese de proteínas virais, tais como: enzimas associadas ao genoma, proteínas do capsídeo e glicoproteínas do envelope. Considerando a diversidade de tipos de genomas virais, as etapas de transcrição, tradução e replicação são diversificadas. De modo geral, os vírus com genoma do tipo RNA se replicam no citoplasma da célula hospedeira, com suporte das proteínas celulares presentes no citoplasma, ao passo que os vírus DNA (Figura 2) se replicam com suporte da maquinaria presente no núcleo da célula.

5. Montagem e liberação – a montagem das partículas virais (morfogênese) se inicia após a síntese de proteínas virais e a replicação genômica. Nos vírus não envelopados, a montagem da partícula viral pode ocorrer no citoplasma ou no núcleo celular. A liberação desses vírus pode ocorrer pela lise da membrana celular e consequente destruição celular. Os vírus envelopados adquirem seu envelope por um processo denominado de brotamento, no qual o capsídeo viral recém-montado adquire uma parte da membrana celular que irá constituir o envelope viral. O sítio de brotamento pode ser na membrana plasmática celular ou também em membranas intracitoplasmáticas, como vesículas. Nesse caso, as partículas virais são liberadas por exocitose das vesículas contendo as partículas virais já envelopadas. Após as etapas de multiplicação, a maioria dos vírus é liberada da célula com capacidade infectiva, enquanto alguns necessitam sofrer um processo de maturação após a liberação para se tornarem infecciosos.

Processo ativo da célula no qual o material intracelular é transportado por meio de vesículas para o meio extracelular.

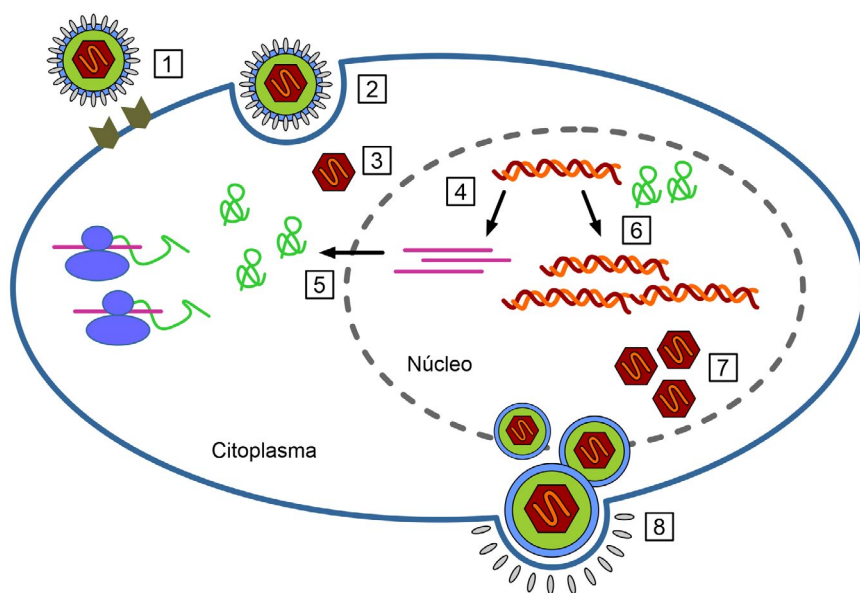
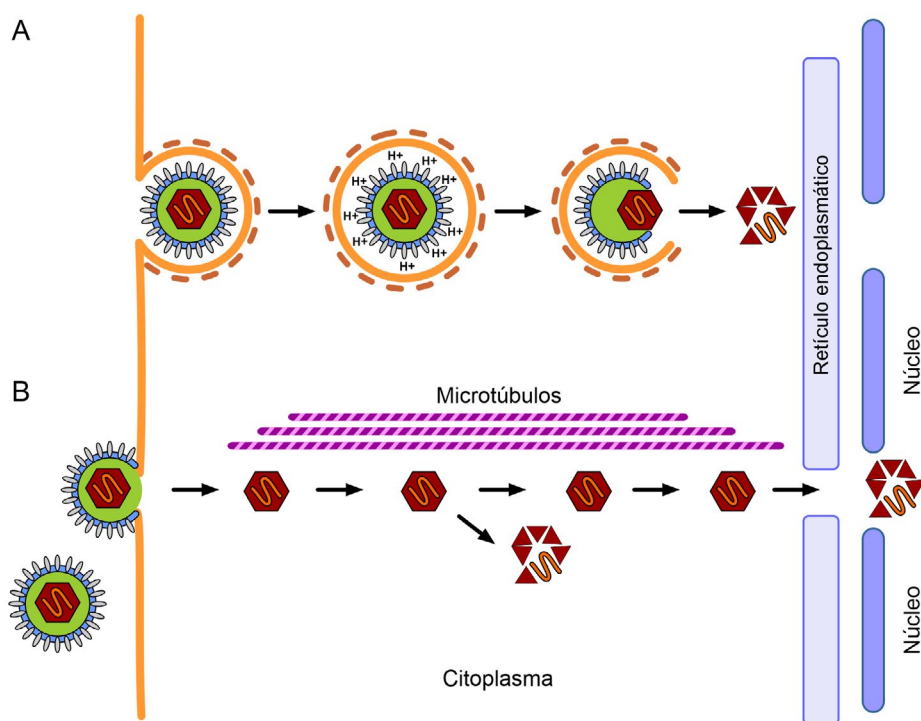
Figura 2 – Esquema geral das etapas de multiplicação dos vírus com genoma de DNA dupla fita

Legenda: 1 – adsorção; 2 – internalização; 3 – desnudamento; 4 – transcrição; 5 –tradução; 6 – replicação do DNA; 7 – montagem das partículas virais; e 8 – liberação das partículas virais por brotamento.

Figura 3 – Principais mecanismos de internalização dos vírus nas células hospedeiras

Legenda: A – mecanismo de endocitose de vírus envelopados com a alteração do pH; e B – mecanismo de fusão direta de vírus envelopados.

Expressão Gênica e Replicação do Genoma

A síntese de proteínas virais pela maquinaria celular é o evento central da multiplicação dos vírus. Os vírus não têm metabolismo próprio e são dependentes da maquinaria celular para a síntese de suas proteínas, portanto é essencial que o RNA mensageiro viral sintetizado seja reconhecido e traduzido pelos ribossomos da célula. Dependendo da estrutura e organização genômica, os vírus apresentam diferentes estratégias de replicação e síntese proteica.

Segundo Baltimore (1971), os vírus podem ser classificados de acordo com o tipo de ácido nucleico e estratégias de replicação, em:

- Classe I: vírus DNA de fita dupla (ex.: herpesvírus);
- Classe II: vírus DNA de fita simples (ex.: parvovírus);
- Classe III: vírus RNA de fita dupla (ex.: rotavírus);
- Classe IV: vírus RNA fita simples polaridade positiva (ex.: picornavírus);
- Classe V: vírus RNA fita simples polaridade negativa (ex.: ortomixovírus);
- Classe VI: vírus RNA fita simples com intermediário DNA (ex.: retrovírus);
- Classe VII: vírus DNA dupla fita com intermediário RNA (ex.: hepadnavírus).

Vírus DNA de fita dupla

A maioria dos vírus DNA se replica no núcleo, no qual também utilizam o aparato celular de transcrição (RNA polimerase II e fatores de transcrição) e de processamento dos transcritos. Os mRNA virais produzidos têm a estrutura *cap* (capa constituída por uma guanosina modificada com a função de proteger o mRNA da digestão por nucleases presentes no meio), são poliadenilados (poli-A) e alguns são submetidos a *splicing* antes de serem exportados para o citoplasma. Embora sejam vírus DNA, os poxvírus e asfarvírus são considerados exceções, uma vez que se replicam no citoplasma e, portanto, são independentes da maquinaria nuclear de síntese e processamento de DNA e RNA, pois contam com enzimas próprias.

Capa constituída por uma guanosina modificada, com a função de proteger o RNA mensageiro da digestão por nucleases.

Vírus DNA de fita simples

Embora a maioria dos vírus de DNA apresente um genoma dupla fita, existem algumas famílias virais em que o DNA é de fita simples, como é o caso dos vírus da família *Parvoviridae* (DNA linear) e *Circoviridae* (DNA circular). Nesse caso, para que ocorra a replicação do genoma viral é necessária uma etapa adicional, que consiste na síntese da fita de DNA complementar à fita de DNA genômico, pela polimerase e fatores auxiliares da célula hospedeira. O DNA de fita dupla é, então, transcrito pela RNA polimerase II, originando os RNAm que são processados e exportados para o citoplasma para serem traduzidos.

Vírus DNA dupla fita com intermediário RNA

Os vírus da família *Hepadnaviridae* (ex.: vírus da hepatite B) são os que mais se distinguem dos outros vírus com genoma DNA. Seu genoma de DNA dupla fita é incompleto e, ao contrário dos outros, os hepadnavírus utilizam estratégia de transcrição reversa do RNA para a replicação do DNA genômico. Portanto, esses vírus sintetizam uma molécula de RNA como molde para replicação do DNA, por meio de DNA polimerase viral com atividade de transcriptase reversa. O processo de transcrição dos genes virais ocorre no núcleo, entretanto a replicação do genoma viral acontece no citoplasma da célula infectada.

Enzima que produz uma nova molécula de DNA (DNA polimerase) ou de RNA (RNA polimerase) por meio do pareamento de bases nitrogenadas, com base em um molde de DNA.

No núcleo, inicialmente, a síntese da fita de DNA codificante é completada por polimerases e fatores auxiliares da célula hospedeira, dando origem a um DNA dupla fita em que as extremidades são covalentemente ligadas, formando o círculo covalentemente fechado (cccDNA). O cccDNA é transcricionalmente ativo e, portanto, este é transcrito pela RNA polimerase II celular, originando mRNAs que são processados e exportados para o citoplasma, onde são traduzidos em proteínas.

A replicação depende da interação entre fatores celulares e virais e ocorre por meio da síntese de um RNA pré-genômico no citoplasma. A presença do RNA pré-genômico no citoplasma, juntamente com o acúmulo de proteínas estruturais e polimerase viral, proporciona o empacotamento do RNA em pré-capsídeos. Dentro de pré-capsídeos, ocorre a transcrição reversa do molde de RNA pré-genômico em uma dupla fita incompleta de DNA.

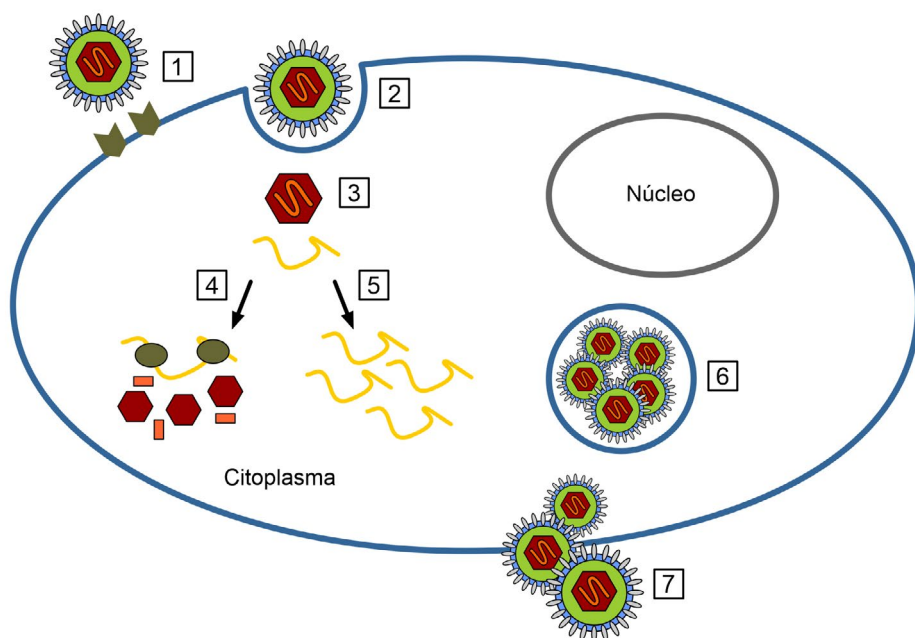
Vírus RNA

Ao contrário da maioria dos vírus DNA, os vírus com genoma de RNA se multiplicam no citoplasma da célula hospedeira. Os vírus RNA apresentam diferentes estratégias de replicação que estão relacionadas à polaridade da fita de RNA e à presença de uma DNA polimerase viral-RNA dependente e, portanto, podem ser agrupados em:

- vírus de RNA de fita simples com polaridade positiva;
- vírus de RNA de fita simples com polaridade negativa;
- vírus de RNA de fita dupla; e
- vírus de RNA de fita simples com intermediário de DNA.

Os vírus com genoma de RNA de fita simples com polaridade positiva apresentam a estratégia mais simples de replicação, pois seu genoma (fita positiva) serve de RNA mensageiro, e, portanto, podem iniciar a síntese de proteínas logo após a penetração na célula (Figura 4). Por isso, o genoma desses vírus é dito *infeccioso.* Dois mecanismos diferentes de expressão e replicação são descritos para os vírus RNA de polaridade positiva:

- nas famílias *Picornaviridae* e *Flaviviridae*, ocorre a tradução da poliproteína viral precursora (contendo todas as ORFs codificadas pelo vírus), seguida do processamento dessa poliproteína por proteases virais, originando as proteínas estruturais e não estruturais do vírus. Para a replicação, o RNA genômico serve de molde para produção de uma fita de RNA complementar de polaridade negativa (replicativo intermediário), que será transcrito novamente pelo RNA polimerase-RNA dependente viral, em um RNA genômico de polaridade positiva. Durante o processo de multiplicação viral o RNA genômico pode ser imediatamente traduzido para produção de proteínas ou servir de molde para síntese de novas fitas de RNA que serão empacotadas para formar as novas partículas virais;
- nas famílias *Coronaviridae*, *Togaviridae*, *Caliciviridae* e *Astroviridae*, a replicação também é iniciada com a produção de uma poliproteína precursora. No entanto, esta contém apenas as proteínas não estruturais. Após o processamento da poliproteína pela protease viral, o RNA polimerase viral produz um RNA antigenômico (polaridade negativa, contrário ao genômico) com base no molde de RNA genômico. O RNA de polaridade negativa servirá de molde para síntese de RNAm subgenômicos, que, por sua vez, serão molde para a tradução de proteínas estruturais e para a transcrição de novos RNAs genômicos (polaridade positiva).

Figura 4 – Esquema geral das etapas de multiplicação dos vírus com genoma de RNA

Legenda: 1 – adsorção; 2 – internalização; 3 – desnudamento; 4 – tradução; 5 – replicação; 6 – montagem das partículas virais; e 7 – liberação das partículas virais.

Vírus RNA de fita dupla

O genoma desses vírus é um RNA de fita dupla segmentado, sendo composto de dez a 12 segmentos (reovírus) ou dois segmentos (birnavírus de animais). Após a penetração viral, ainda em capsídeos semi-íntegros, a polimerase viral (RNA polimerase-RNA dependente) presente nos vírions realiza a síntese de RNAm de cada segmento por vez, utilizando como molde a fita de RNA de polaridade negativa para a produção de RNA de polaridade positiva que serve de RNAm. Os RNAm sintetizados podem ser traduzidos em proteínas virais e servirem de molde para replicação, por meio da síntese do RNA de polaridade negativa. Dentro de capsídeos pré-formados pelas proteínas virais estruturais, os segmentos de RNA de polaridade negativa recém-sintetizados servem de molde para síntese do RNA complementar (polaridade positiva).

Vírus RNA fita simples polaridade negativa

O genoma desses vírus pode ser um RNA de sentido negativo, não segmentado (paramixovírus, rabdovírus e filovírus) ou segmentado (ortomixovírus, buniavírus e arenavírus); todos trazem a replicase viral de RNA. Nos que têm o genoma não segmentado, os genes são transcritos individualmente, originando mRNAs que são traduzidos nas proteínas estruturais e não estruturais. Nos vírus com o genoma segmentado, cada um deles contém um (ou dois) gene(s), que também são transcritos individualmente. Durante a replicação, ocorre a síntese de RNAs antigenômicos (intermediários de replicação), que servirão de molde para síntese de RNAs genômicos, nos vírus segmentados. Nos vírus não segmentados, os RNAs antigenômicos (polaridade positiva) apresentam a extensão inteira do genoma e servem de molde para síntese de RNAs genômicos (polaridade negativa).

Enzima que replica o material genético dos vírus compostos por RNA (autorreplicação).

Vírus RNA polaridade positiva com intermediário DNA

O genoma desses vírus é composto de duas moléculas idênticas de RNA de polaridade positiva que, no entanto, não são traduzidas pelos ribossomos.

A replicação do genoma dos retrovírus ocorre em parte no citoplasma (logo após a penetração do nucleocapsídeo na célula hospedeira, seguido de transcrição reversa do RNA viral, gerando DNA) e em parte no núcleo (o genoma viral se desloca para o núcleo, e a enzima integrase realiza a integração do DNA viral ao genoma celular).

Os retrovírus realizam, por meio da sua polimerase viral (transcriptase reversa), o processo reverso de transcrição para originar cópias de DNA complementar (cDNA), com base no RNA viral (ex.: HIV). A partir do cDNA, é sintetizada uma molécula de DNA dupla fita que se integra ao genoma da célula infectada, pela ação da enzima integrase. Com o DNA inserido no genoma celular (denominado de provírus), a transcrição dos RNAm virais é feita pela RNA polimerase II e fatores de transcrição celulares. A RNA polimerase sintetiza fitas de RNAm, que posteriormente são processadas por

splicing e traduzidas em proteínas virais. A síntese de transcritos completos servirá de molde para tradução de proteínas virais e para estes serem empacotados como RNA genômico, dando origem a novas partículas virais.

Mecanismo de processamento da molécula de RNA que consiste na remoção de algumas sequências de bases nitrogenadas (denominadas íntrons), com manutenção de outras sequências (denominadas éxons), que serão unidas, formando uma molécula de RNA madura.

Bibliografia
Consultada/Sugerida

ABRAHÃO, J. *et al*. Tailed giant Tupanvirus possesses the most complete translational apparatus of the known virosphere. *Nature Communications*, 9(1): 749, 2018. ISSN 2041-1723.

INTERNATIONAL COMMITTEE ON TAXONOMY OF VIRUSES (ICTV). Current ICTV taxonomy release. Disponível em: <https://talk.ictvonline.org/taxonomy>. Acesso em: 3 abr. 2023.

KNIPE, D. M.; HOWLEY, P. M. *Fields Virology*. 6 ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2013.

SANTOS, N. S. O.; ROMANOS, M. T. V. & WIGG, M. D. *Virologia Humana*. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2015.

2

Diagnóstico de Infecções Virais

Alexandre dos Santos da Silva • Andreza Salvio Lemos • Arthur Daniel Rocha Alves • Bianca Cristina Leires Marques • Camilla Rodrigues de Almeida Ribeiro • Caroline Pereira Bittencourt Passaes • Debora Regina Lopes dos Santos • Diogo Gama Caetano • Eliane Veiga da Costa • Fernanda de Oliveira Bottino • Fernando Tavares • Flávia Freitas de Oliveira Bonfim • Gentil Arthur Lins Bentes Mendonça de Vasconcelos • Jéssica Vasques Raposo Vedovi • Livia Melo Villar • Luciane Almeida Amado Leon • Lyana Rodrigues P. Lima Capobianco • Márcia Paschoal do Espírito Santo • Natália Spitz Toledo Dias • Nathália Alves Araujo de Almeida • Nathalia Beatriz Ramos de Sá • Renata Tourinho Santos Cantinho Bricio • Suwellen Sardinha Dias de Azevedo • Tatiana Prado • Tulio Machado Fumian • Vanessa Salete de Paula

O diagnóstico laboratorial das infecções virais é de fundamental importância para auxiliar na tomada de decisões dos profissionais da saúde quanto ao manejo do paciente, assim como em estudos de vigilância epidemiológica de diversas doenças. Neste capítulo, descrevem-se conceitos básicos do sistema e da resposta imunológica nas infecções virais, bem como metodologias de diagnóstico no campo da virologia, destacando suas aplicações, vantagens e limitações.

O Sistema Imune e as Bases da Imunidade

A resposta imune – responsável pela defesa e homeostase do organismo – é viabilizada pela interação entre moléculas e células do sistema imunológico. A função imunológica tem sido conceitualmente dividida em inata e adaptativa. Por um lado, a imunidade inata representa um mecanismo de defesa conservado em diversos organismos multicelulares que responde imediatamente após o contato com patógenos, sendo caracterizada por uma resposta rápida e inespecífica, desencadeada por uma variedade

importante, mas limitada, de estímulos. É constituída de barreiras físicas, químicas e biológicas, células especializadas e componentes moleculares solúveis, presentes em todos os indivíduos, independentemente de contato prévio com patógenos.

A imunidade adaptativa, por outro lado, é estimulada após exposição a agentes infecciosos e aumenta em magnitude e eficiência a cada exposição sucessiva a um patógeno em particular. Por isso, essa resposta é marcada por uma alta especificidade e memória, mediada por células que expressam receptores muito diversos, capazes de reconhecer muitos antígenos e mediadores químicos, como citocinas. Vale ressaltar que esses dois tipos de respostas constituem sistemas integrados baseados na cooperação. A resposta imune inata envia sinais precoces que estimulam as respostas imunes adaptativas, o que, por sua vez, mediante os mecanismos efetores da resposta inata, aumenta sua eficiência.

Moléculas produzidas geralmente em resposta ao estímulo antigênico e que funcionam como um mensageiro químico para regulação do sistema imune adaptativo e inato.

A Resposta Imune nas Infecções Virais

Nas infecções virais, a primeira barreira contra a infecção é constituída pelas mucosas, uma vez que a maioria dos vírus infecta seus hospedeiros pelas vias aéreas, trato gastrointestinal e trato urogenital. Proteínas denominadas defensinas e ambientes altamente ácidos existentes nessas mucosas são os principais responsáveis pela eliminação do vírus nesse sítio de entrada. Porém, se o vírus for bem-sucedido e romper essa barreira inicial, células presentes na derme podem capturar o agente infeccioso e iniciar a resposta imune. O reconhecimento inicial de patógenos – nesse caso específico, os vírus – é feito por meio de um conjunto de receptores de reconhecimento de padrões (PRR, do inglês *pattern recognition receptors*) que reconhecem padrões moleculares associados a patógenos (Pmaps) conservados associados a diversas classes de vírus.

A ativação dos PRRs promove a ativação de cascatas de sinalização intracelulares que culminam com a transcrição de genes estimulados por interferon (ISG, do inglês *interferon-simulated genes*), que atuam como

fatores diretos de restrição viral, além de genes envolvidos na resposta inflamatória. Dentre as principais funções realizadas pela ativação dos PRRs, destacam-se: a opsonização, a ativação do sistema complemento, a indução da fagocitose e da apoptose e a ativação de vias de sinalização de citocinas pró-inflamatórias, principalmente da via do interferon tipo I (IFN-α e IFN-β) e tipo III (IFN-λ 1, 2 e 3). Os interferons tipo I são um grupo de citocinas secretadas por todas as células nucleadas presentes em mamíferos, quando infectadas por vírus. Os IFN do tipo III estão limitados a células epiteliais e a um subconjunto de células imunes, desempenhando papel específico na proteção de superfícies mucosas.

Os interferons são conhecidos por apresentarem elevadas atividades antivirais, antiproliferativas e imunomoduladoras, além de induzir a expressão de ISGs, estabelecendo assim um estado antiviral em células vizinhas não infectadas. Centenas desses ISGs exercem atividade antiviral direta, impedindo a entrada viral, a replicação e o brotamento em novas células. Essas citocinas induzem um estado antiviral e, uma vez secretadas em uma célula, as vizinhas começam a apresentar um estado de resistência à infecção viral por meio de diversos mecanismos. Um desses mecanismos é a inibição de genes virais por meio das enzimas Mx GTPases – proteína de ligação ao trifosfato de guanosina (GTP) codificada pelo gene *MX1* –, gerando um estado não permissivo a novas infecções.

Ademais, os interferons tipo I podem ativar células *natural killer* (NK) e macrófagos que atuam na primeira linha de defesa contra infecções virais, constituindo elementos importantes da resposta imune inata. Macrófagos e NK são capazes de eliminar rapidamente células infectadas por meio de sua atividade citotóxica (células NK) e, no caso dos macrófagos, pela liberação de mediadores inflamatórios que induzem a proliferação e ativação de outras células do sistema imune. Já foi demonstrado que o Sars-CoV e Mers-CoV podem inibir a via do interferon por meio de algumas proteínas produzidas por esses vírus, como a ORF3b e ORF4a (do inglês *open reading frame*), respectivamente.

Além disso, citocinas produzidas pela ativação dos PRRs podem atuar na ativação da resposta imune adaptativa, recrutando células imunes para

o sítio da infecção e auxiliando a resposta antiviral. No entanto, apesar de a produção de citocinas ser imprescindível em uma resposta antiviral, existe um balanço entre proteção e patogênese relacionado a esses sensores: já foi documentada a associação entre a tempestade de citocinas e a severidade de sintomas na infecção pelo vírus influenza. Outra estratégia que muitos vírus possuem para evadir a resposta imune inata é a alta taxa de replicação. Em contrapartida, paralelamente à resposta inata, também ocorre a ativação da resposta adaptativa, principalmente através da ativação dos linfócitos B e T.

Os linfócitos B podem responder a uma infecção viral em diversas frentes, pela produção de anticorpos que vão atuar na neutralização do vírus, na ativação do sistema complemento, na opsonização e fagocitose e na citotoxicidade mediada por anticorpos (ADCC, sigla em inglês para *antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity*). Os linfócitos TCD8+ são um dos principais efetores em respostas antivirais por intermédio de sua atividade citotóxica, produzindo substâncias que vão promover a lise de células infectadas. Essas células podem, ainda, atuar na produção de citocinas pró-inflamatórias, as quais estimularão outras células que participam da resposta imune de modo geral. A ativação dos linfócitos TCD4+, por sua vez, pode seguir diferentes caminhos efetores, dependendo dos fatores imunológicos presentes no sítio da infecção, como citocinas, quimiocinas e hormônios.

> Compõem uma grande família de citocinas que estimulam o movimento dos leucócitos e regulam a migração do sangue para os tecidos. São citocinas quimiotáticas que estimulam a produção de novas citocinas e auxiliam em diferenciações celulares.

Podemos definir a resposta efetora de células TCD4 em Th1 e Th2; essas populações são assim definidas com base nas citocinas que produzem. A resposta Th1 está relacionada com a resposta celular, ao passo que a Th2 atua na resposta humoral. A maioria das infecções virais induz a produção de interferons e, por conseguinte, há uma preferência para a ativação da resposta do tipo Th1. Porém, em alguns casos, podem ocorrer respostas mistas, como no caso do vírus da rubéola, que induz uma resposta do padrão Th1 no início da infecção e, já na fase final da doença, essa resposta muda para o padrão Th2. Tais linfócitos T com perfil Th2 podem regular a resposta antiviral por meio da ativação de linfócitos B para produção de anticorpos contra o vírus.

> Resposta executada por linfócitos T que produzem citocinas necessárias para uma resposta efetora eficiente contra patógenos intracelulares, tais como os vírus.

A Vacinação e o Treino da Imunidade

No conjunto, tais mecanismos utilizados pelo sistema imune para impedir a infecção de patógenos são os responsáveis pelo desenvolvimento da imunidade. Essa imunidade, por sua vez, pode ser: natural, conferindo proteção inespecífica mediante a ação dos componentes do sistema imune inato e das barreiras físicas como o epitélio e a microbiota; ou adquirida, garantindo resposta imune eficiente a longo prazo e, em caso de infecções repetitivas, por meio da ação do sistema imune adaptativo.

Nas infecções virais, os mecanismos de imunidade são responsáveis por diversas frentes que tentam impedir a replicação viral e a manutenção da infecção. Na resposta imune inata, a principal estratégia é o reconhecimento de padrões moleculares comuns aos vírus pelas células imunes inatas que, então, ativam seus mecanismos efetores; um exemplo é a degradação de células infectadas realizada pelas células NK. Já na resposta imune adaptativa, ocorre a produção de anticorpos e a proliferação de células específicas capazes de impedir a disseminação viral.

Em virtude de sua capacidade de memória de longo prazo e especificidade, a resposta imune adaptativa é a principal responsável pelo efeito das vacinas. O processo pode consistir em estimular a ação e a montagem da resposta de linfócitos B e T por meio da exposição do organismo a antígenos, caracterizando a imunidade ativa, ou em aplicar diretamente anticorpos específicos para o patógeno contra o qual se deseja vacinar, caracterizando a imunização passiva. Para agentes virais, a imunização ativa pode ser alcançada tanto por inoculação de antígenos de interesse como por inoculação direta de variantes virais.

Nas estratégias de vacinação baseadas em uso de variantes virais, as vacinas podem ser caracterizadas como atenuadas ou inativadas. As atenuadas são compostas de micro-organismos que têm sua patogenicidade atenuada em laboratório, mas mantêm sua capacidade de indução da imunidade específica de anticorpos visando à estimulação da resposta imune (exemplos: vacinas contra sarampo, rubéola, caxumba e varicela). As vacinas inativadas, por sua vez, são compostas de micro-organismos inativados por compostos químicos, como o formaldeído, ou por partí-

culas virais que não apresentam potencial de produzir doença (exemplos: vacinas contra hepatite A, hepatite B, influenza e papilomavírus humano). Apesar de ambos os tipos de vacinas, inativadas e atenuadas, poderem utilizar diretamente os vírus, as inativadas são ainda caracterizadas pela necessidade de adjuvantes e por produzirem pouca ou nenhuma resposta celular, sendo basicamente indutoras da resposta humoral.

Apesar de tais estratégias serem eficientes na indução de imunidade para a grande maioria dos casos, os vírus apresentam exacerbada capacidade de evadir o sistema imune. Alguns desses vírus desenvolveram estratégias de persistência no enfrentamento a componentes imunológicos e permitem o escape da resposta imune. Essas estratégias também atrapalham o desenvolvimento de novas vacinas, criando diversos obstáculos. Em alguns casos, como o do HIV, o alto potencial de variabilidade genética das proteínas virais é uma barreira importante para o desenvolvimento de uma vacina preventiva com eficácia ampla e duradoura. Em outros casos, como o do vírus influenza, a alta variabilidade demanda que a vacina tenha periodicidade anual e necessite de atualização constante, com base nos antígenos das novas cepas virais circulantes. Por fim, a capacidade de recuperação de patogenicidade em vacinas atenuadas limita a aplicação dessa estratégia para diversos vírus que causam infecções crônicas e agudas.

Uma estratégia eficiente para impedir a reversão de virulência e, que vem sendo utilizada nos últimos anos, é o emprego de vacinas recombinantes. Nesse tipo de imunização, proteínas do patógeno são produzidas em células de bactérias, leveduras, insetos, mamíferos ou plantas, por meio da tecnologia recombinante de DNA, sendo posteriormente purificadas para inoculação em indivíduos saudáveis.

Diferentemente das vacinas atenuadas e inativadas, que podem, respectivamente, reverter a virulência, causando infecção pelo patógeno ou não gerarem a resposta imune completa, as vacinas recombinantes são consideradas mais seguras e eficazes, uma vez que não comportam o material genético do patógeno. Vacinas contra diversos vírus estão sendo modificadas com a finalidade de utilizar a metodologia das vacinas recombinantes; entre elas estão as vacinas da hepatite B, que têm como alvo o

antígeno HBsAg, as vacinas utilizadas por veterinários – como circovírus suíno tipo 2 – e, mais recentemente, a vacina recombinante contra o papilomavírus humano.

Diagnóstico Clássico das Infecções Virais

Cultura celular

O isolamento viral em sistemas vivos, como as culturas celulares, é considerado o padrão-ouro no diagnóstico das infecções virais. Com o cultivo viral em células, além do isolamento e propagação do vírus, é possível também observar os efeitos da infecção viral nas células. Além disso, a produção de vírus em cultura de células não só contribui para o diagnóstico direto, mas também tem sido usada como ferramenta para o desenvolvimento de vacinas, por exemplo, contra a poliomielite, a hepatite A, o sarampo e a rubéola, permitindo que essas doenças tenham sido controladas, e até eliminadas, em grandes áreas.

Os cultivos celulares são classificados de acordo com o tipo de célula usada, podendo ser: cultura de célula primária (preparada com base em tecidos frescos, recém-obtidos por desagregação mecânica ou enzimática do tecido), cultura de células diploides (estabelecida por meio do subcultivo de células primárias) ou cultura de célula contínua (derivada de tumores).

Evidência do crescimento viral

Durante a replicação, alguns vírus têm a capacidade de alterar morfologicamente ou destruir a célula hospedeira e infectar uma nova célula. As alterações visíveis são chamadas de efeito citopático, ou citopatogênico (CPE, sigla em inglês para *cythopatic effect*), e podem ser percebidas com um simples microscópio óptico ou de contraste de fase. Em geral, determinados grupos de vírus produzem um tipo de CPE característico e, para que esse efeito seja observado, a célula cultivada deve ser suscetível à infecção viral suspeita. São exemplos comuns de CPE: a formação de sincícios

Célula que contém muitos núcleos originada por fusão de células uninucleadas ou por muitas divisões celulares incompletas.

Retração e adensamento do núcleo, com perda da individualidade dos grânulos de cromatina.

(alguns herpesvírus e paramixovírus), a picnose nuclear (enterovírus), o arredondamento celular (poliovírus e herpesvírus) e os corpúsculos de inclusão (rabdovírus).

A identificação de um determinado CPE sugere o sucesso do isolamento viral, mas como um mesmo efeito pode ser apresentado por mais de um tipo de vírus, é importante confirmar a identidade do vírus isolado por métodos imunológicos ou moleculares. Em caso de resultado negativo no primeiro subcultivo, segunda e terceira passagens devem ser realizadas; somente se considera negativa uma amostra quando o resultado se mantiver negativo em todas as passagens.

Titulação viral

A titulação viral consiste na quantificação de uma suspensão viral e tem como objetivo a determinação da carga viral. Os três principais métodos de titulação consistem no ensaio de placas, na diluição-limite e na reação em cadeia da polimerase (PCR, sigla em inglês para *polymerase chain reaction*) em tempo real (qPCR).

No ensaio de placas, adequado para vírus citolíticos, observam-se as células mortas com o auxílio de um corante, uma vez que, durante uma infecção viral, o vírus replica-se na célula e é transmitido às células vizinhas, provocando sua morte. Após a inoculação viral em um sistema de cultura em meio contendo agarose, o corante (cristal violeta) é adicionado para observação de células vivas. Dessa forma, quanto mais corado o poço, menor a carga viral. A concentração de partículas virais, determinada pelo número de unidades formadoras de placas (PFU, sigla em inglês para *plaque forming units*) por mililitro, pode ser calculada usando a seguinte fórmula:

Concentração viral = número total de placas virais / volume usado x fator de diluição

O método da diluição-limite detecta as células vivas de uma cultura de células suscetíveis infectadas pelo vírus de interesse. Calcula-se a diluição que gera a infecção em 50% das culturas inoculadas (TCID50, sigla do inglês *tissue culture infectious dose* ou dose infectante 50%). Uma tabela

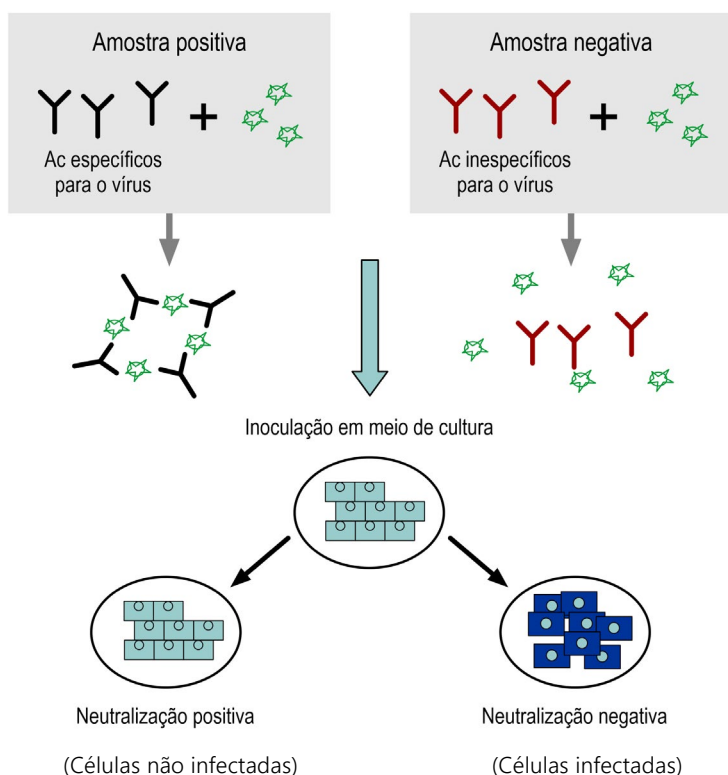
deve ser construída contendo o número de culturas infectadas e não infectadas para cada diluição e os totais acumulados de culturas infectadas e não infectadas para uma das diluições. Esse método é mais complexo, mas, como vantagem, pode ser utilizado para diagnóstico de vírus que não induzem a morte celular.

Diagnóstico Sorológico das Infecções Virais

O diagnóstico sorológico das infecções virais baseia-se na identificação de anticorpos específicos produzidos em resposta a uma infecção viral. As técnicas mais comumente utilizadas no diagnóstico sorológico são as descritas a seguir.

Teste de neutralização

O teste de neutralização é baseado no princípio de que o vírus, quando interage com anticorpos específicos, é neutralizado – perdendo, então, a capacidade de infectar células permissivas. Além disso, determina-se a diluição máxima na qual o anticorpo específico contra determinado antígeno consegue inibir a replicação viral em cultura celular, ovos embrionados ou animais. Desse modo, o teste de neutralização pode ser usado tanto para a identificação de vírus quanto para avaliação do nível de anticorpos específicos (Figura 1).

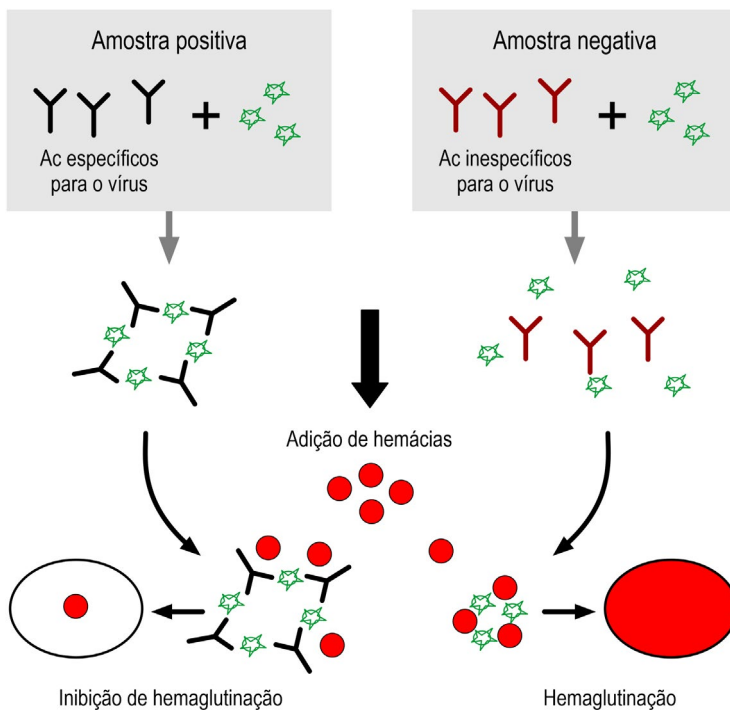
Figura 1 – Esquema do teste de neutralização

Em uma amostra *positiva* existem anticorpos específicos para o vírus que o neutralizam, mas tais anticorpos estão ausentes nas amostras *negativas*. Após inoculação em meio de cultura, a reação de neutralização é considerada positiva quando o antígeno (o vírus) presente na amostra é neutralizado por anticorpos específicos; ele perde, portanto, a capacidade de infectar células permissivas.

Para a detecção de anticorpos, uma suspensão de um vírus conhecido é misturada ao soro do paciente que contém os anticorpos de especificidade desconhecida. Esse método detecta anticorpos totais – imunoglobulina M (IgM) e imunoglobulina G (IgG) –, sem discriminar a classe da imunoglobulina. Por conta disso, o diagnóstico de uma infecção recente utilizando esse método para pesquisa de anticorpos somente pode ser realizado pela demonstração da conversão sorológica ou soroconversão. Nesse caso,

testam-se simultaneamente as duas amostras de soro do paciente: soro da fase aguda e soro da fase convalescente; diluições seriadas dos soros são empregadas para determinação do título de anticorpos.

Teste de inibição da hemaglutinação

Este teste baseia-se na capacidade de determinados vírus de aglutinar eritrócitos de aves ou mamíferos. Os anticorpos específicos, ao ligarem-se às proteínas virais responsáveis pela hemaglutinação, inibem a ligação do vírus ao eritrócito. Sem essa ligação o eritrócito não é aglutinado, o que demonstra a presença do vírus (Figura 2).

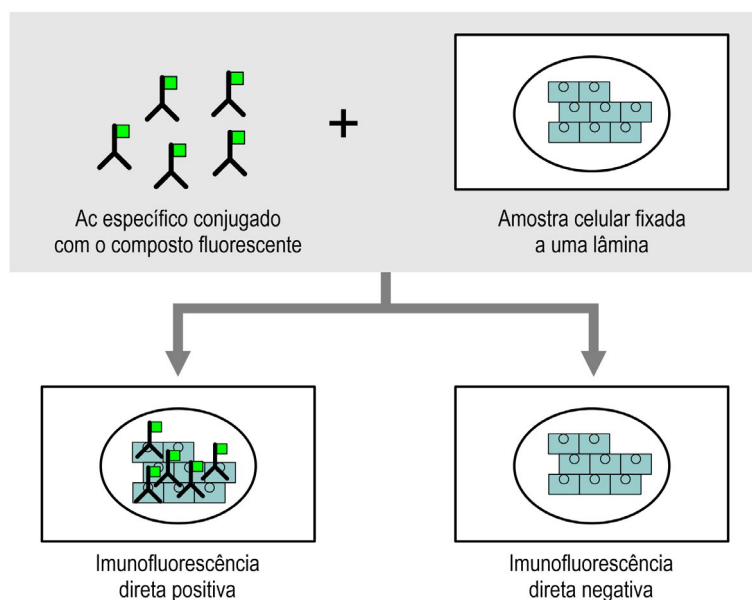
Figura 2 – Esquema de um teste de inibição da hemaglutinação

No esquema, é possível observar que amostras *positivas* apresentam anticorpos específicos para o vírus. Quando hemácias são adicionadas ao teste, os vírus, que estão ligados aos anticorpos específicos, não hema-

glutinam e as hemácias deslocam-se para o fundo, criando um *botão de hemácias*. Quando a amostra é *negativa*, essa inibição de hemaglutinação não ocorre e existe uma espécie de *tapete* formado por vírus e hemácias.

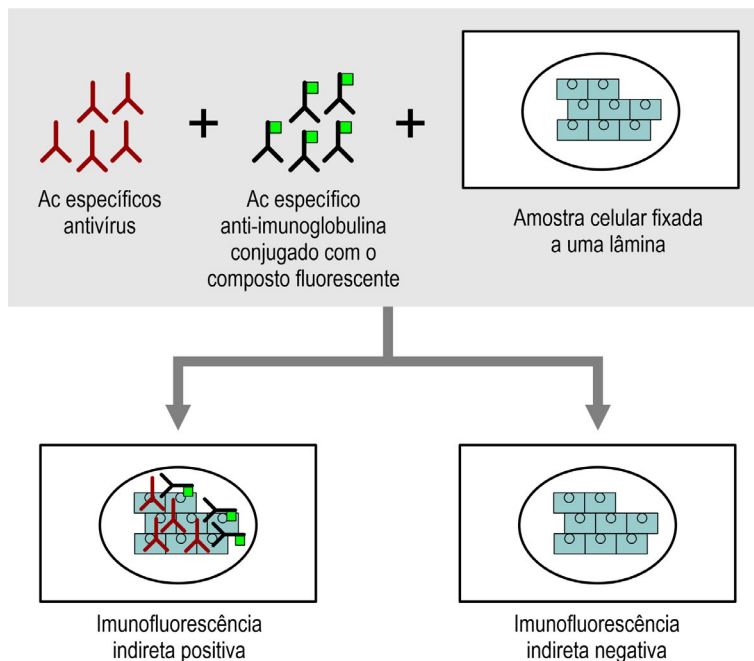
Imunofluorescência

Esta técnica baseia-se no uso de anticorpos marcados com corantes fluorescentes (fluoresceína, rodamina, *Texas Red*), que são empregados na pesquisa de vírus específicos. Os imunocomplexos vírus-anticorpos marcados são visualizados pela imunofluorescência no microscópio de fluorescência. Quando excitado pela luz ultravioleta emitida pelo microscópio, o corante fluorescente emite uma luz no comprimento de onda curto, visível à microscopia. A cor emitida é determinada pelo tipo de corante empregado. A imunofluorescência pode ser realizada pela técnica direta ou indireta.

A imunofluorescência direta é bastante utilizada na identificação de antígenos virais e baseia-se na adição de anticorpos ligados a compostos fluorescentes à amostra em estudo, sendo comum o seu emprego em células ou tecidos (Figura 3).

Figura 3 – Esquema de imunofluorescência direta

A reação de imunofluorescência direta é considerada positiva quando observada uma fluorescência evidente ao microscópio, como resultado da ligação do anticorpo específico que está diretamente conjugado ao composto fluorescente.

A imunofluorescência indireta é empregada em laboratórios de virologia para a detecção de antígeno ou anticorpos. Essa técnica é realizada em duas etapas: na primeira, anticorpos não marcados e específicos ao vírus são adicionados às células infectadas, fixadas a uma lâmina de microscópio; essa amostra é incubada e lavada. Na segunda etapa, adiciona-se anticorpo anti-imunoglobulina conjugado com o composto fluorescente (Figura 4).

Figura 4 – Esquema de imunofluorescência indireta

A reação de imunofluorescência indireta é considerada positiva quando observada uma fluorescência evidente ao microscópio, como resultado da ligação do anticorpo anti-imunoglobulina, conjugado com o composto fluorescente, ao anticorpo primário, específico.

Teste imunoenzimático

Os testes imunoenzimáticos – Elisa (sigla do inglês para *enzyme linked immunosorbent assay*) – baseiam-se no emprego de anticorpos conjugados a enzimas e na sua utilização para a detecção de antígenos ou anticorpos. A reação é revelada pela adição do substrato em solução cromogênica. O primeiro componente da reação (antígeno ou anticorpo) é fixado a uma fase sólida (exemplo: placa de poliestireno), seguindo-se a adição da amostra teste para formação do imunocomplexo.

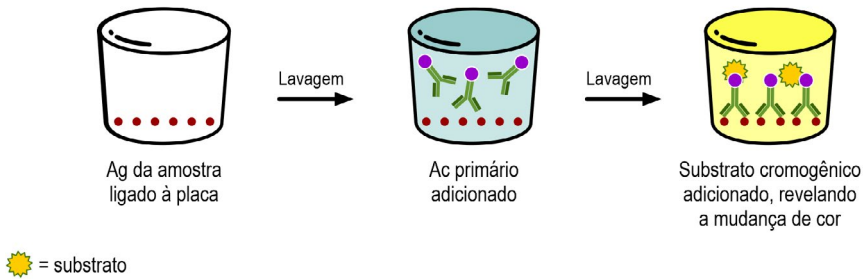
Tipo de resina termoplástica polimerizada por meio do estireno (vinil benzeno).

Após incubação e lavagem da fase sólida (placa, fita ou cassete), o conjugado é adicionado. Após nova incubação e lavagem, a reação é revelada pela adição do substrato específico da enzima empregada, associado a um cromógeno. Essa adição final resulta na mudança de coloração, cuja quantificação é feita pela medida da densidade óptica da solução em espectrofotômetro, ou pela intensidade de cor visual. Existem quatro tipos de ensaio imunoenzimático: direto, indireto, sanduíche (ou de captura) e competitivo.

Direto

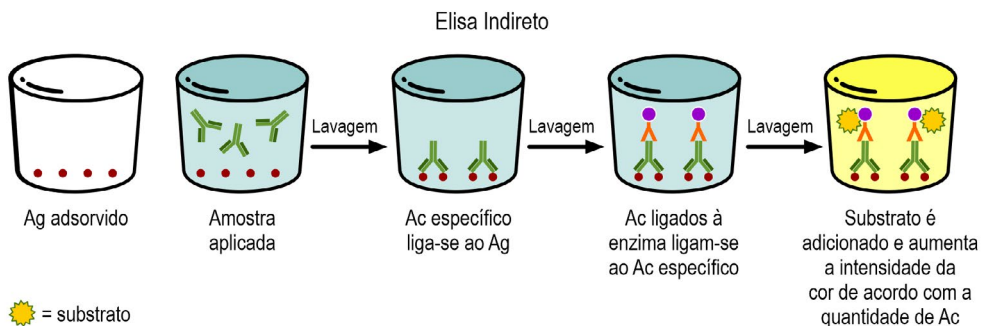
É indicado para identificação de antígenos. Corresponde ao procedimento básico do Elisa, pois não utiliza anticorpos de captura ou alvos de competição. A amostra que contém o antígeno a ser detectado é adicionada ao suporte e, após incubação e uma lavagem para retirada dos componentes não fixados, adiciona-se um conjugado enzimático (anticorpo ligado à enzima). Por fim, acrescenta-se o substrato cromogênico. Se a amostra contiver o antígeno, ele se liga ao anticorpo conjugado à enzima e desenvolve cor proporcional à quantidade de antígeno na amostra (Figura 5).

Que produz pigmento ou cor.

Figura 5 – Esquema de um ensaio de Elisa direto

Em uma placa de Elisa direto, o antígeno/alvo está ligado à placa e um anticorpo primário (conjugado enzimático) é colocado diretamente sobre o alvo. O teste é revelado pela adição do substrato cromogênico. Se a amostra for positiva, a intensidade de cor aumenta à medida que a quantidade de antígeno se eleva.

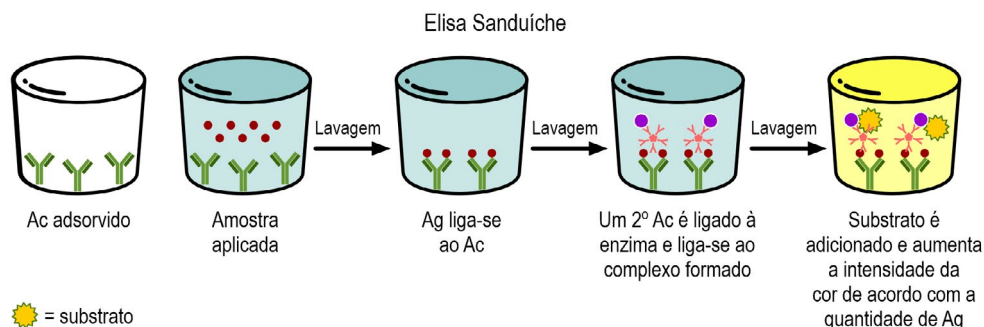
Indireto

Detecta a presença de anticorpos. Nesse caso, a amostra de soro, contendo anticorpos cuja presença se quer verificar, é incubada com o suporte sólido que contém o antígeno previamente fixado (Figura 6). Após a lavagem para retirada dos componentes não fixados, um anticorpo anti-imunoglobulina marcado com uma enzima (conjugado) é adicionado. O conjugado fixa-se ao complexo antígeno-anticorpo da fase sólida. Uma nova etapa de lavagem é realizada para retirada do conjugado não ligado, seguida da adição do substrato cromogênico que resultará na produção de reação colorida, de intensidade proporcional à quantidade de anticorpo presente na amostra (Figura 6).

Figura 6 – Esquema de um ensaio de Elisa indireto

Em uma placa de Elisa indireto contendo antígenos adsorvidos, aplicam-se as amostras de soro a serem testadas. Se as amostras forem positivas, os anticorpos presentes se ligam a esses antígenos adsorvidos. Em seguida, adiciona-se um conjugado que consiste em anticorpo ligado a uma enzima, capaz de reconhecer anticorpos da amostra. Essa enzima reage com o substrato adicionado em seguida, provocando mudança na intensidade de cor, à medida que a quantidade de antígeno aumentar na amostra.

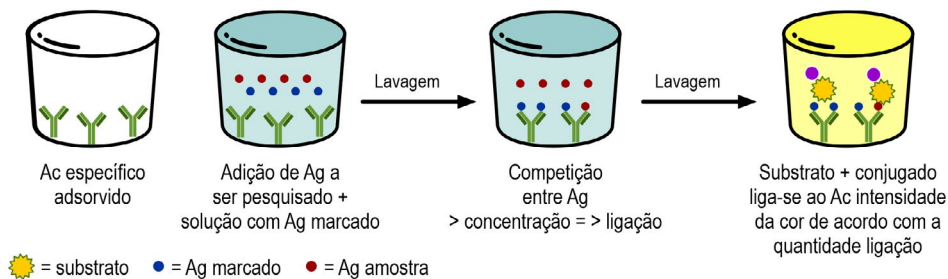
Sanduíche (ou de captura)

É indicado para identificação de antígenos. O Elisa sanduíche é chamado assim pois o antígeno, cuja presença se pretende verificar, fica entre dois anticorpos, o de captura e o de detecção. Nesse método, os anticorpos de captura são ligados ao suporte sólido da placa. A seguir, é adicionada a amostra contendo o antígeno, que se liga aos anticorpos de captura. Após a lavagem para retirada de antígenos que não se ligaram aos anticorpos de captura, adicionam-se anticorpos conjugados à enzima, que fazem o reconhecimento da presença do antígeno. Uma nova etapa de lavagem é realizada para a retirada dos anticorpos conjugados que não se ligaram à amostra e, por fim, adiciona-se o substrato que reage com a enzima, promovendo mudança de cor (Figura 7). Como essa técnica utiliza anticorpos de captura, há um aumento da especificidade da ligação com a amostra.

Figura 7 – Esquema de um ensaio de Elisa sanduíche

Na placa de Elisa sanduíche, são adsorvidos anticorpos específicos para o vírus que está sendo pesquisado. Em seguida, amostras são aplicadas aos poços e, se forem positivas, os vírus presentes se ligam a esses anticorpos adsorvidos. Um conjugado (anticorpo específico contra o antígeno ligado a uma enzima) é adicionado e se liga ao complexo formado (anticorpo adsorvido + antígenos da amostra). A enzima acoplada ao anticorpo reage com o substrato cromogênico adicionado, resultando em mudança de cor, cuja intensidade é proporcional à quantidade de antígeno na amostra.

Competitivo

É mais usado para identificação de antígenos, mas pode também ser empregado para a detecção de anticorpos. Nesse método, primeiro se adsorve o anticorpo no poço da microplaca. A amostra a ser testada (contendo o antígeno), juntamente com o conjugado (antígeno marcado com enzima), são simultaneamente incubados em cada cavidade. Se a amostra apresentar o antígeno específico, ele compete com o conjugado para unir-se na fase sólida. Dessa forma, após a adição do substrato enzimático e do cromógeno, as amostras positivas (contendo o antígeno) são incolores e as negativas apresentam cor (Figura 8).

Figura 8 – Esquema de um ensaio de Elisa competitivo

Em uma placa de Elisa competitivo são adsorvidos anticorpos específicos ao vírus que está sendo pesquisado. Em seguida, são aplicados ao poço a amostra a ser pesquisada e os antígenos marcados, ou seja, contendo a enzima. Quanto maior a quantidade de antígenos da amostra, maior é

sua ligação aos anticorpos adsorvidos, proporcionalmente aos antígenos marcados. E quanto menor a quantidade de antígenos marcados ligados aos anticorpos adsorvidos, menos intensa a produção de cor, depois da adição de substrato. Portanto, se a amostra for muito positiva, não há quantidade suficiente de antígenos marcados para reagir com o substrato e o poço permanece incolor. Em uma amostra *negativa*, só há antígenos marcados ligados aos anticorpos adsorvidos e a intensidade de cor será máxima nesse poço.

Imunoblotting

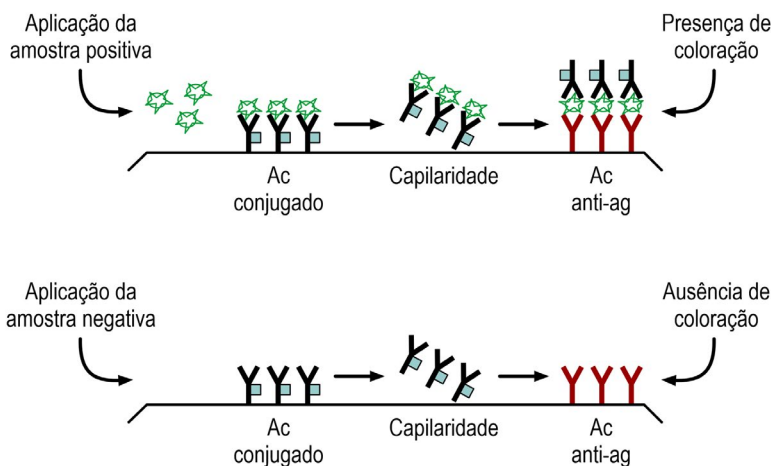
Neste ensaio são utilizados anticorpos ou antígenos ligados a uma fase sólida, específicos contra anticorpos presentes na amostra (IgM ou IgG). Geralmente se utiliza, como fase sólida, um suporte em forma de pente contendo, em cada dente, o antígeno ou o anticorpo (Figura 9). Os antígenos ou anticorpos contidos na amostra são, então, capturados pelos anticorpos ou antígenos imobilizados na fase sólida e revelados pela adição de antígenos ou anticorpos conjugados à enzima e específicos contra o material da amostra.

Um exemplo é o teste de *imunoblotting* para o diagnóstico de anticorpos específicos para a proteína de superfície do vírus da hepatite B (HBs). No ensaio, antígenos de HBs contidos na fase sólida ligam-se a anticorpos IgG e IgM específicos contra o vírus da hepatite B na amostra. Os anticorpos que não se ligam são lavados e retirados na fase seguinte. Após a remoção desses anticorpos inespecíficos, adiciona-se antígeno HBs, conjugado com enzima reveladora. Após esse passo, junta-se o substrato que revela, por meio da coloração da amostra, a presença de anticorpos específicos.

Figura 9 – Teste comercial de *imunoblotting*

Teste rápido (imunocromatografia)

Baseia-se na migração de antígenos ou anticorpos contidos na amostra, por cromatografia, ao longo de um suporte sólido (membrana de nitrocelulose) (Figura 10). O antígeno ou o anticorpo é fixado na membrana sob a forma de linhas ou pontos. Para detecção de antígenos, podem ser utilizados anticorpos fixados na membrana e um segundo anticorpo conjugado a um corante. Nesse caso, o antígeno contido na amostra se liga a anticorpos específicos conjugados a um corante insolúvel – como ouro coloidal (róseo) ou prata coloidal (azul marinho) – e, após a migração por cromatografia, a formação do imunocomplexo (antígeno-anticorpo) é revelada pelo depósito do corante coloidal na linha de captura. Os testes rápidos permitem a obtenção do resultado em um curto espaço de tempo e, por apresentarem um bom desempenho e constituírem uma metodologia de fácil aplicação, têm sido amplamente empregados no diagnóstico de diversas infecções virais, como a infecção pelo HIV e as hepatites virais, por exemplo.

Figura 10 – Esquema de um teste rápido (imunocromatografia) para detecção de antígenos

A amostra é aplicada em um suporte sólido (membrana de nitrocelulose). Os vírus presentes na amostra pesquisada migram na membrana

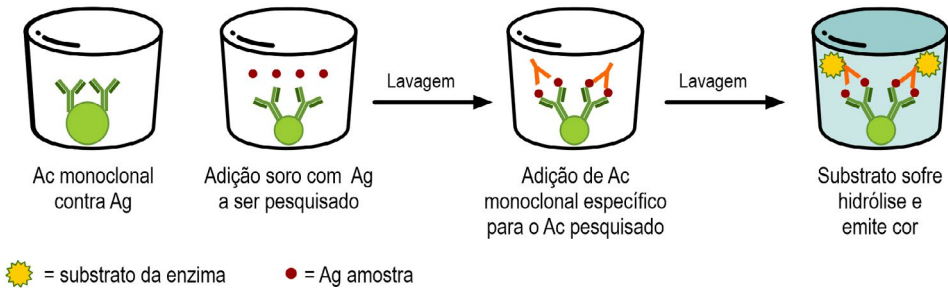
de nitrocelulose por capilaridade, até se ligarem a anticorpos específicos que estão conjugados. Esse complexo antígeno + anticorpo continua migrando pela membrana até encontrar anticorpos antiantígeno fixados na membrana de nitrocelulose e desencadear a coloração na faixa do teste. Do contrário, se a amostra for negativa, essas ligações de antígeno e anticorpo não acontecem e o teste não apresenta coloração.

Testes automatizados por quimioluminescência

Trata-se de um método imunológico baseado na emissão de energia luminosa por meio de uma reação química. A técnica baseia-se na ligação de antígenos ou anticorpos, presentes em fluidos corporais ou soro, a microesferas revestidas com anticorpo monoclonal ou antígeno. Um dos dois reagentes é conjugado a uma substância que, quando ativada, emite luz visível. A emissão de luz é proporcional à quantidade do reagente pesquisado (Figura 11).

Basicamente, nesse método, uma microesfera de poliestireno é revestida com anticorpo monoclonal contra o antígeno analisado. Após a adição e a incubação da amostra, ocorre a lavagem para retirada do antígeno não fixado. A seguir, adiciona-se o conjugado (anticorpo monoclonal específico para o antígeno marcado com enzima). Após a incubação do conjugado e uma nova lavagem para retirar o anticorpo não fixado, adiciona-se o substrato da enzima. O substrato quimioluminescente sofre hidrólise na presença da enzima, produzindo substâncias instáveis que geram emissão de fótons (luz). Esses fótons são medidos através de um fotomultiplicador com a função de transformar a luz emitida em impulsos elétricos, que são lidos em contagens por segundo (cps) de luz. Essa unidade é proporcional à quantidade de antígenos presentes na amostra.

Reação química na qual uma molécula de água quebra uma ou mais ligações químicas.

Figura 11 – Esquema do teste automatizado por quimioluminescência

Em microesferas de poliestireno, são adsorvidos anticorpos monoclonais contra os antígenos pesquisados. Em seguida, a amostra é adicionada ao meio e, se for positiva, carreia os antígenos que estão sendo pesquisados. Um anticorpo direcionado contra o antígeno sendo pesquisado, conjugado a uma enzima, é adicionado ao meio, assim como o substrato da enzima. A hidrólise do substrato, promovida pela enzima, resulta em emissão de cor, revelando a positividade da amostra.

Diagnóstico Molecular das Infecções Virais

As técnicas moleculares de detecção viral são bastante utilizadas no diagnóstico e vêm substituindo métodos convencionais, como a propagação do vírus em cultura celular. O diagnóstico molecular de uma infecção viral baseia-se em detectar o material genético do vírus em amostra clínica, como soro, sangue total, fezes, tecidos, saliva etc. Quando comparadas às demais metodologias aplicadas ao diagnóstico viral, as técnicas moleculares apresentam diversas vantagens, dentre as quais destacam-se: detecção viral precoce; alta sensibilidade e especificidade para revelar baixas concentrações de vírus presentes em uma amostra; detecção de vírus que não podem ser identificados por meio de cultivo celular; e alta capacidade de diferenciação de gênero, espécie e genótipo viral, com base na utilização de ferramentas para tipagem e caracterização viral. Atualmente, os testes moleculares têm diversas aplicações tanto no diagnóstico das infecções virais como no âmbito da pesquisa científica, na rotina clínica de hospitais e bancos de sangue.

A seguir, abordam-se as principais técnicas de biologia molecular utilizadas no diagnóstico e estudo de infecções virais.

PCR

A PCR é, atualmente, uma das técnicas mais comumente utilizadas em laboratórios de pesquisa para o diagnóstico. Esse método emprega os fundamentos da replicação enzimática do DNA, utilizando uma enzima DNA polimerase termoestável. Permite a amplificação, *in vitro*, de uma sequência específica de DNA, aumentando exponencialmente o número de cópias do fragmento-alvo. A fim de replicar *in vitro* o DNA, determinados reagentes são necessários para compor a reação de PCR. São eles:

Fora do organismo vivo. Expressão do latim que significa em vidro em português.

- Enzima DNA polimerase: é uma enzima DNA-polimerase, DNA-dependente, termoestável, que sintetiza o DNA no sentido 5' → 3', utilizando o Mg^{2+} como cofator. Durante a reação, promove o aumento do número de cópias do DNA molde ao replicar o DNA.
- Oligonucleotídeos, ou iniciadores, ou *primers*: são curtas sequências de DNA sintético, contendo aproximadamente 15 a vinte nucleotídeos, que são complementares às regiões altamente conservadas do genoma de interesse. Devem ser compostos de 40% a 60% de bases guanina e citosina e não devem ter sequências complementares entre si, ou demais iniciadores utilizados na reação. Geralmente, na reação, utilizam-se no mínimo dois iniciadores – o senso e o antissenso, que se hibridizam no genoma viral na região de interesse para amplificação, determinando o tamanho do fragmento a ser replicado.
- Desoxinucleotídeos trifosfatados (dNTPs): são usados pela enzima polimerase na síntese das novas fitas de DNA com base na fita molde. Consistem em compostos de quatro bases nitrogenadas: timina, citosina, adenina e guanina. Durante a síntese da nova fita, a base complementar àquela que compõe a fita molde é adicionada à sua extremidade 3', liberando fosfato como produto dessa reação de adição de nucleotídeo.

- Cloreto de magnésio ($MgCl_2$): a presença de Mg^{2+} é essencial para a reação, atuando como cofator da polimerase. Esse íon influencia a desnaturação do DNA e promove maior estabilidade na ligação entre o DNA molde, o iniciador e a enzima, aumentando o rendimento da reação e reduzindo o número de erros inseridos no produto sintetizado pela enzima.
- Solução tampão: confere o ambiente ideal em que a reação deve ocorrer, pois regula o pH ao seu potencial ótimo de 8,3 – requerido para a função enzimática da DNA polimerase. A composição do tampão é variável de acordo com a enzima utilizada, mas todos contêm o composto Tris-HCl (hidroximetil aminometano) e sais.
- Íons cátions: o Na^+ ou K^+ estão presentes nas soluções-tampão utilizadas na PCR e são requeridos para diminuir a repulsão entre as moléculas de DNA e os iniciadores.
- Água: deve ser livre de enzimas DNases e RNases (capazes de degradar DNA e RNA). É utilizada para ajustar a concentração final dos componentes da reação, além de completar o volume final da reação.
- Ácido nucleico: DNA ou cDNA (o ácido nucleico de alguns vírus é RNA, o que exige uma etapa de transcrição reversa para síntese de cDNA, anterior à PCR propriamente) da amostra biológica, diluído em água livre de DNase e RNase ou em tampões de eluição de *kits* comerciais. O excesso de DNA pode inibir a reação de PCR, ao passo que a escassez pode dar origem a um resultado falso negativo ou ao insucesso da reação.

Etapas da PCR

A PCR é realizada no termociclador, equipamento que permite a replicação da região-alvo a ser estudada *in vitro*, mediante repetidos ciclos de temperaturas alternadas, de acordo com as seguintes etapas:

- Etapa de desnaturação: o termociclador eleva a temperatura da mistura a 94-96 °C, promovendo a separação da fita dupla de DNA em duas fitas simples, por meio da quebra das pontes de hidrogênio.

A abertura da fita dupla permite o acesso da polimerase e dos iniciadores à região-alvo. A temperatura de desnaturação (ou temperatura de *melting*) é aquela em que metade dos fragmentos de DNA está em dupla fita (pareado) e a outra metade em fita simples (desnaturado). A temperatura de *melting* (Tm) depende diretamente do tamanho do fragmento e da quantidade de guanina e citosina (G-C) do fragmento.

- Etapa de hibridização: A redução da temperatura para 55-70 °C possibilita a restauração de pontes de hidrogênio, permitindo que os iniciadores se hibridizem com a região-alvo do DNA por homologia durante o processo de renaturação. A temperatura de hibridização é aquela em que ocorre o pareamento entre os iniciadores e a fita de DNA molde. Essa temperatura é calculada de acordo com as propriedades do iniciador, tais como tamanho e composição das bases nitrogenadas. A estringência da hibridização dos iniciadores determina a especificidade no produto de DNA a ser amplificado: temperaturas muito baixas resultam em menor estringência (iniciador pode parear de forma inespecífica); temperaturas muito altas resultam em maior estringência (iniciador pode não parear).

- Etapa de extensão: Com a hibridização do iniciador ao DNA-alvo, ocorre a formação de uma pequena dupla fita, que é reconhecida pela DNA polimerase. A enzima, então, acopla-se e adiciona as bases nitrogenadas complementares às da fita molde, a partir do último nucleotídeo do iniciador. Esse processo resulta na síntese de novas fitas de DNA complementares à original. A temperatura desta etapa varia de acordo com a enzima usada na reação (67 °C a 72 °C), e a duração depende do tamanho da região a ser amplificada e da capacidade de incorporação da enzima.

Um ciclo de PCR é composto das três etapas citadas anteriormente. O número de ciclos varia de acordo com a enzima utilizada e a quantidade de DNA molde presente na reação. Os múltiplos ciclos resultam no aumento exponencial da quantidade de DNA, ou seja, há relação entre amplificação (A), eficiência da reação (E) e o número de ciclos:

(C): $A = (1+E)^C$

Tipos de PCR

Os principais tipos de PCR são:

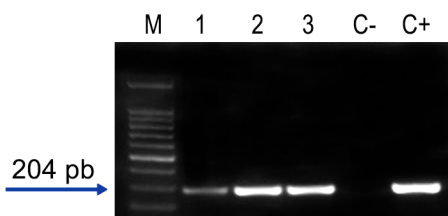
- *Nested* PCR: neste procedimento, dois conjuntos de iniciadores são utilizados em duas reações consecutivas. Na primeira PCR, um par de iniciadores é usado para gerar produtos de DNA contendo uma região-alvo. O produto da primeira PCR é, então, utilizado como molde para a segunda PCR, por meio de iniciadores internos, que hibridizam em uma região dentro do produto da primeira PCR. A reamplificação do produto de PCR aumenta a quantidade do material a ser trabalhado, melhorando a sensibilidade e a especificidade da reação.
- RT-PCR (PCR precedida de transcrição reversa): a PCR depende da presença de uma molécula de DNA. Portanto, no caso dos vírus compostos de RNA, uma etapa pré-PCR é necessária, com o uso da enzima transcriptase reversa. Essa enzima é responsável por gerar uma fita de DNA complementar (cDNA) à molécula de RNA, em uma etapa denominada transcrição reversa (RT, da sigla em inglês para *reverse transcription*). Na PCR, esse cDNA tem suas fitas de RNA degradadas, dando origem apenas a novas moléculas de DNA.
- PCR multiplex: a PCR multiplex permite que diferentes alvos sejam amplificados em uma mesma reação. Para que isso ocorra, diferentes pares de iniciadores são adicionados na mistura da reação, produzindo *amplicons* (produtos da reação) de tamanhos variados. Entretanto, essa reação precisa ser padronizada para evitar que os valores de sensibilidade e especificidade sejam menores do que aqueles observados na PCR.

Eletroforese

Uma vez amplificado o ácido nucleico-alvo por PCR, a análise qualitativa ou quantitativa do material é comumente realizada por meio de eletroforese em gel. O produto da reação é, pois, aplicado em um gel de agarose, colocado em uma cuba e submetido à eletroforese. Nesse processo, os fragmentos de DNA previamente amplificados são separados de acordo

com seu tamanho e percebidos como bandas de comprimento equivalente ao ponto de aplicação da amostra. O tamanho da banda esperada equivale ao fragmento amplificado, delimitado pelos iniciadores. A eletroforese baseia-se em uma corrente de elétrons que migram de um polo negativo para um polo positivo. Como o DNA apresenta carga global negativa, deve ser aplicado próximo ao polo negativo da cuba para se deslocar em direção ao polo positivo. O intercalante de DNA tem carga positiva e migra para o polo negativo.

Com a migração do produto amplificado, ocorre a diferenciação dos tamanhos dos *amplicons*, de acordo com a posição das bandas formadas. Quanto menor o tamanho do fragmento, maior será a distância de migração no gel em relação ao ponto de aplicação. Do ponto de vista operacional, quanto menores os tamanhos esperados dos fragmentos, maior a concentração de agarose empregada na confecção do gel. Depois da eletroforese, o gel pode ser observado em um transiluminador, equipamento que emite radiação UV, excitando a fluorescência do intercalante de DNA (brometo de etídio, GelRed® etc.) contido no gel de agarose e permitindo que as bandas formadas sejam visualizadas. Um exemplo de eletroforese em gel de agarose para o diagnóstico em virologia pode ser visualizado a seguir (Figura 12).

Figura 12 – Exemplo de um gel de agarose após eletroforese, com a amplificação de um fragmento de 204 pares de bases (pb) nos poços 1, 2, 3 e no controle positivo da reação

M: Marcador de peso molecular (100 pb)
1 a 3: Amostras positivas para o parvovírus B19
C-: Amostra controle negativo
C+: Amostra controle positivo

ALVES, A. D. R. *Diagnóstico laboratorial da infecção pelo Parvovírus Humano B19 em pacientes com falência hepática aguda*, 2017. Dissertação de Mestrado, Rio de Janeiro: Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz.

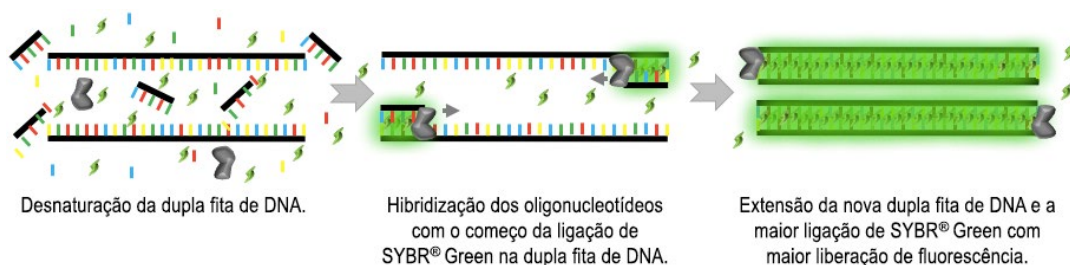
PCR em tempo real (qPCR)

A qPCR permite que o produto amplificado seja detectado à medida que a reação acontece; por esse motivo, é chamada de PCR em tempo real. Os resultados da qPCR podem ser qualitativos (presença ou ausência de uma sequência) ou quantitativos (número de cópias de um fragmento de DNA). A técnica emprega um fluoróforo ou intercalante de DNA, como o sistema SYBR® Green, ou usa sondas de hidrólise de DNA marcadas com fluoróforos, como o sistema TaqMan®. Além desses compostos que emitem fluorescência, o termociclador da qPCR depende de um sistema de detecção de fluorescência e um *software* integrado ao computador, que permite a visualização simultânea do produto sendo amplificado.

SYBR® Green

O sistema SYBR® Green utiliza um fluoróforo intercalante que se liga covalentemente na fita dupla de DNA e, quando excitado pela luz, emite fluorescência verde. Sendo assim, quanto mais fitas duplas de DNA são geradas, mais moléculas ligam-se, aumentando o sinal de fluorescência, que pode ser detectada pelo sistema óptico do equipamento, acoplado ao computador. O aumento da intensidade da fluorescência é proporcional à quantidade de produto de PCR gerado. Para melhorar a especificidade da metodologia de SYBR® Green, é necessário adicionar uma etapa de curva de dissociação na qPCR, que permite discriminar moléculas-alvo por meio da Tm. Nessa etapa, a temperatura varia de 95 °C para 60 °C e, depois, novamente para 95 °C. A fluorescência produzida vai diminuindo, em razão da separação da dupla fita de DNA. Quando o equipamento detecta 50% da fluorescência original, a temperatura correspondente é determinada e a curva de dissociação montada.

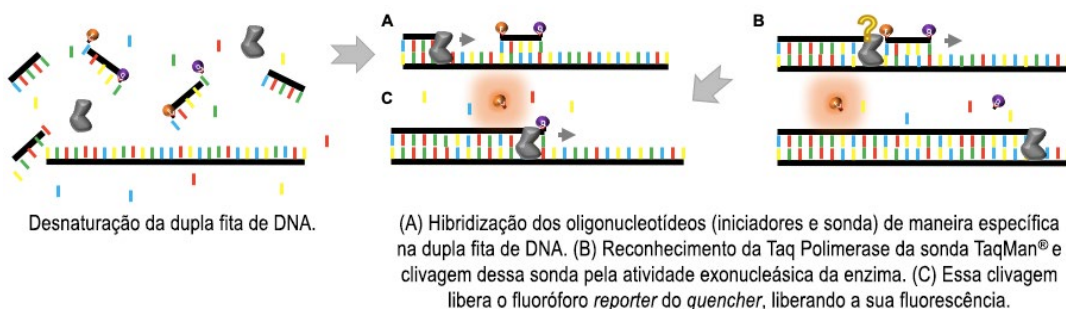
As vantagens desse sistema são o baixo custo, as facilidades de uso – em relação aos demais sistemas de qPCR – e a alta sensibilidade. O esquema na Figura 13 demonstra o sistema de detecção por SYBR® Green.

Figura 13 – Sistema de detecção pelo método SYBR® Green

TaqMan®

O Sistema TaqMan® utiliza uma enzima DNA polimerase com atividade de exonuclease e uma sonda. O uso da sonda aumenta a especificidade e acurácia dessa técnica em relação às demais desenvolvidas, pois como a sonda liga-se especificamente a uma sequência interna aos iniciadores da reação, não há sinais de luminescência durante a amplificação de produtos inespecíficos. Essa sonda TaqMan®, que se liga especificamente ao DNA molde, apresenta na extremidade 5' um fluoróforo *reporter* (molécula que emite a fluorescência) e, na extremidade 3', um *quencher* (molécula que captura a energia do fluoróforo *reporter*). Com a polimerização, a DNA polimerase encontra a sonda TaqMan® e, em razão de sua atividade exonucleásica, ocorre a clivagem dessa sonda, de modo a permitir que a molécula *reporter* se afaste do *quencher*; assim, a fluorescência é emitida. A emissão de fluorescência aumenta com a quantidade de produtos da reação e acaba sendo detectada pelo sistema óptico do equipamento. O esquema na Figura 14 ilustra o sistema de detecção por TaqMan®.

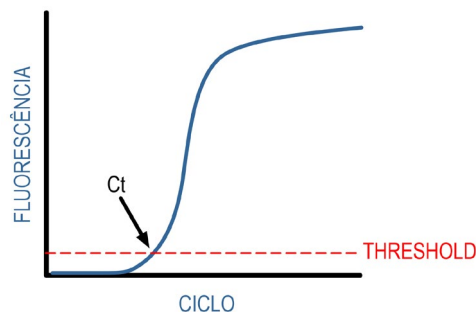
Figura 14 – Sistema de detecção pelo método TaqMan®

Desnaturação da dupla fita de DNA.

(A) Hibridização dos oligonucleotídeos (iniciadores e sonda) de maneira específica na dupla fita de DNA. (B) Reconhecimento da Taq Polimerase da sonda TaqMan® e clivagem dessa sonda pela atividade exonucleásica da enzima. (C) Essa clivagem libera o fluoróforo *reporter* do *quencher*, liberando a sua fluorescência.

As etapas de amplificação do DNA na qPCR são semelhantes às da PCR convencional, acrescidas de uma etapa inicial de descontaminação, que depende da enzima Uracil N-glicosilase (UNG), ativada em 50 °C por dois minutos. Essa enzima diminui os ruídos de fluorescência, fazendo uma descontaminação prévia da placa; está presente em todas as misturas comercialmente disponíveis de qPCR.

Análise dos resultados da qPCR

Os resultados da qPCR são considerados para análise na fase exponencial, que fornece dados mais precisos para a quantificação. Nessa fase, dois valores são calculados: o *threshold* e o *cycle threshold* (Ct). A linha *threshold* (ou limiar) é o nível de detecção no qual a reação alcança uma intensidade fluorescente acima da base (*background* ou *baseline*). O valor Ct indica o número de ciclos necessários para que a fluorescência da amostra seja detectada acima da linha *threshold* e é calculado pelo número de ciclos em que a amplificação resulta em emissão de fluorescência suficiente para ser considerada um valor positivo. Comparando os valores de Ct de amostras de concentrações desconhecidas com uma série de padrões com concentrações de *amplicon*s conhecidos, a quantidade de DNA em uma reação desconhecida pode ser determinada (Figura 15).

Figura 15 – Gráfico da curva de amplificação da qPCR

Tipos de quantificação

Existem dois métodos para determinar a quantidade de vírus (carga viral) através da qPCR:

- Quantificação absoluta: determina o número de cópias de vírus presentes em determinada amostra. Pode ser aplicada para a obtenção da carga viral nas amostras para vírus como hepatite B, hepatite C, HIV, entre outros. Para realizar a quantificação, deve-se construir uma curva-padrão de quantificação, com base em valores de carga viral já conhecidos. A curva-padrão pode ser obtida por diferentes métodos, tais como: painéis comerciais (DNA), clonagem de controles positivos em vetores de expressão e oligonucleotídeos sintéticos com o tamanho do produto de PCR. A curva-padrão de quantificação deve apresentar uma eficiência de 90% a 100%.
- Quantificação relativa: é utilizada quando não se faz necessário saber os valores absolutos de cópias virais em determinada amostra, mas sim o quanto esse valor aumentou (ou diminuiu) em relação à amostra de referência. Os resultados dessa quantificação são expressos em ordem de grandeza dos valores de Ct das amostras. Esse valor gera uma quantificação relativa do DNA de cada uma das amostras, após ser corrigido e comparado pelo Ct dos genes normalizadores e das amostras-controles.

Outras metodologias de quantificação viral

Outras metodologias que permitem a quantificação viral:

- *High resolution melting* (HRM): surgiu em 2002, criada por meio de uma inovação tecnológica na metodologia de SYBR® Green da qPCR. Detecta Tm ainda mais específicas, uma vez que forma curvas de dissociação bem mais robustas, com base em um quantitativo maior de dados. Após a realização da qPCR, a placa utilizada é acoplada ao equipamento de HRM e permite a realização de aplicações como genotipagem, detecção de mutações e combinação de sequências.

  O princípio do HRM é a Tm, definida pela temperatura específica em que ocorre o desnaturamento de 50% da fita dupla de DNA em fita simples. Essa temperatura é influenciada pelo tamanho do fragmento estudado (fragmentos maiores têm Tm maiores) e pela quantidade de pareamentos GC (guanina + citosina), pois esse pa-

reamento utiliza três ligações de hidrogênio, necessitando de mais energia (mais temperatura) para ser clivado.

A sua alta resolução deve-se à variação de temperaturas em 0,01 °C ocorrendo a cada milissegundo, gerando muitos dados para a construção da curva de dissociação. Essa variação em alta resolução permite detectar diferenças em bases únicas de cada sequência, sendo possível a genotipagem. Um componente fundamental para essa genotipagem são as amostras-padrão de cada genótipo procurado.

Após o preparo da placa de qPCR e a obtenção dos resultados de Ct, o operador transfere a placa para o equipamento de HRM, procedendo ao aumento da temperatura no equipamento. Esse aumento de temperatura faz com que a fita dupla de DNA seja clivada e, com isso, os intercalantes de DNA vão sendo liberados, diminuindo a fluorescência detectada. Quando a fluorescência está 50% menor que no início, significa que 50% do DNA foi desnaturado. É com base nessas informações que a curva de dissociação é montada.

- PCR digital: A técnica de PCR digital (dPCR), desenvolvida em 2006, permite a quantificação absoluta de amostras baseada na amplificação de uma única molécula molde de DNA. Em razão da alta sensibilidade da técnica e do particionamento da amostra, não há necessidade de preparo de curva-padrão (fundamental para a quantificação por qPCR). O uso dessa técnica depende do preparo da mistura contendo todos os reagentes necessários para a PCR, acrescida de uma sonda fluorescente.

  No entanto, em lugar de aplicar essa mistura em uma placa, o operador deve colocar o tubo com a mistura em um equipamento carregador juntamente com o chip da dPCR. Esse equipamento faz o particionamento (ou emulsão) da mistura contendo a amostra em pequenas gotas. Cada gota contém todos os reagentes necessários para a PCR e uma única molécula de DNA. O particionamento seria o ponto crítico da dPCR. As gotas são carregadas uma em cada poço do chip e, no fim desse carregamento, cada minúsculo poço do chip contém uma molécula de DNA e todos os reagentes necessários para

sua amplificação. O chip é retirado do equipamento de carregamento e colocado em um termociclador convencional.

Após a termociclagem, os poços contêm uma quantidade conhecida de DNA, passível de ser detectada com base na intensidade de fluorescência. A leitura do chip de dPCR é realizada usando um *software*, que marca cada poço como positivo ou negativo. Ao fim da leitura, o equipamento gera a quantificação absoluta da amostra. As aplicações da dPCR são: detecção de vírus raros, quantificação realmente absoluta da carga viral e confecção precisa das curvas-padrão utilizadas na qPCR. Sequenciadores de nova geração utilizam a dPCR na quantificação de sua biblioteca e na validação dos dados gerados.

Sequenciamento do ácido nucleico viral

Outra técnica importante para os estudos de biologia molecular é o sequenciamento de DNA, que possibilita a determinação da ordem em que os nucleotídeos (adenina, guanina, citosina e timina) estão dispostos em uma molécula. Essa metodologia tornou-se indispensável para o conhecimento de sequências de DNA em diversos ramos da pesquisa em virologia, podendo ser aplicada para uso em diagnóstico, biotecnologia, genotipagem e caracterização molecular.

A primeira técnica de sequenciamento de nucleotídeos foi descrita em 1977 pelo pesquisador Frederick Sanger e colaboradores e denominada, por conseguinte, método de Sanger. Nesse método, utilizam-se moléculas conhecidas como terminadores de cadeia, como detalhado a seguir, para realizar o sequenciamento de nucleotídeos. Atualmente, variações dessa técnica são utilizadas e vêm sendo responsáveis pelos grandes avanços e descobertas sobre o genoma de diversos organismos, incluindo vírus, bactérias, protozoários, plantas, além do genoma humano.

A reação de sequenciamento baseia-se em uma PCR, com a inclusão de dideoxinucleotídeos (ddNTPs), nucleotídeos que impedem a incorporação do nucleotídeo seguinte, por isso a denominação “terminadores de cadeia”. Consistem em nucleotídeos modificados, que não contêm o radical

hidroxila (OH) no carbono 3' da pentose, impedindo, portanto, a formação da ligação fosfodiéster. Uma vez que esses ddNTPs são incorporados nas cadeias nascentes, essas cadeias são terminadas de forma prematura, gerando fragmentos de diversos tamanhos.

A primeira versão dessa técnica consistia na adição de cada um dos quatro ddNTPs em tubos separados, contendo todos os demais reagentes (Figura 16). Assim, em cada um dos quatro tubos eram gerados fragmentos de DNA de tamanhos diferentes, indicando a posição que cada nucleotídeo ocupava naquela sequência de DNA. Devido à marcação radioativa dos iniciadores, a identificação da sequência nucleotídica era realizada depois da separação dos fragmentos gerados em eletroforese em gel de acrilamida, posterior revelação por autorradiografia e leitura manual – do menor fragmento em direção ao maior –, para a aferição da ordem nucleotídica.

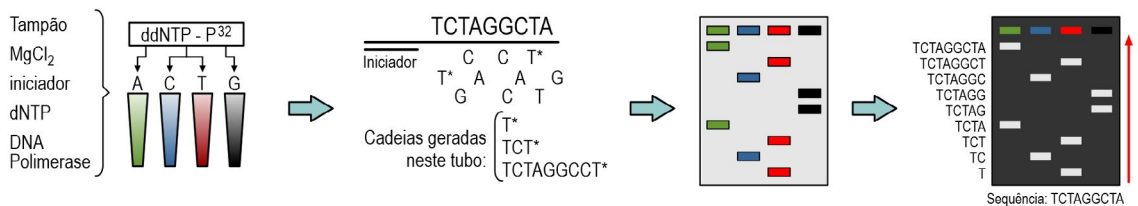
Figura 16 – Método de Sanger de sequenciamento de nucleotídeos

A utilização de marcadores fluorescentes nos ddNTPs permitiu o desenvolvimento de sequenciadores automatizados. O sequenciamento automatizado utiliza o mesmo princípio do método de Sanger. Contudo, a utilização de ddNTPs marcados com diferentes fluoróforos e o uso de eletroforese capilar permitiram um grande avanço, tanto em qualidade quanto em quantidade das sequências geradas. Atualmente, a leitura das sequências está diretamente associada a um programa de computador (Figuras 17 e 18), apresentando inúmeras vantagens em relação ao método antigo (que, além de manual, era extremamente laborioso, demorado, e utilizava elementos radioativos). Nessa nova técnica, a reação passou a ser realizada em um único tubo, já que os nucleotídeos são marcados com quatro fluoróforos distintos, e a confecção de grandes géis de acrilamida também foi abolida.

Figura 17 – Método automatizado de sequenciamento de nucleotídeos

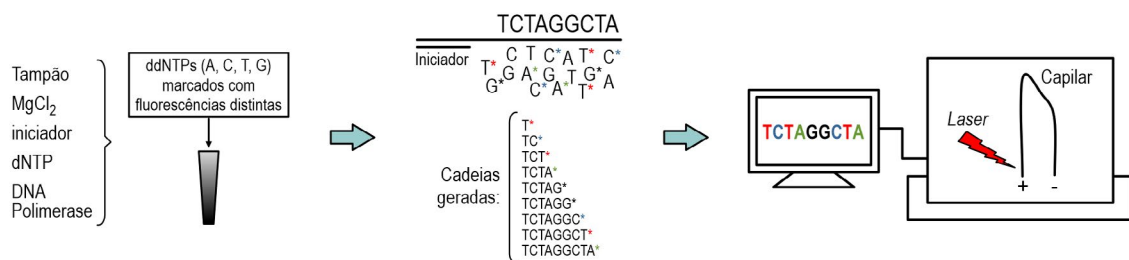
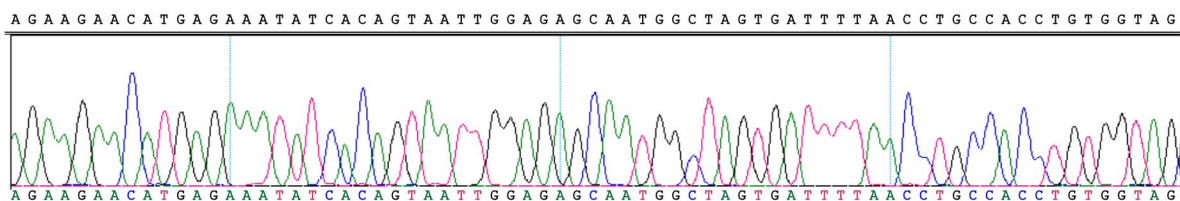



Figura 18 – Exemplo de eletroferograma obtido por meio de sequenciamento

ALVES, A. D. R. *Diagnóstico laboratorial da infecção pelo Parvovírus Humano B19 em pacientes com falência hepática aguda*, 2017. Dissertação de Mestrado, Rio de Janeiro: Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz.

PCR *versus* sequenciamento

Apesar das similaridades entre os processos, o método conhecido como amplificação prévia ao sequenciamento é diferente do método classicamente utilizado na PCR. A PCR produz milhões de cópias de uma região do DNA com base em cópias do DNA molde. Cada cópia produzida durante a PCR, em cada ciclagem, torna-se um novo molde para o próximo ciclo. Além disso, na reação de PCR utilizam-se iniciadores dos dois lados da fita de DNA (senso e antissenso). Assim, em uma única ciclagem da PCR, uma cópia da fita molde original produz duas cópias e essas duas cópias, no ciclo seguinte, geram mais quatro cópias, e assim por diante. Esse método de amplificação é chamado de amplificação exponencial.

No método de amplificação prévia ao sequenciamento, usa-se um iniciador em vez de dois, e o processo de amplificação copia apenas uma das fitas do DNA. Essa cópia segue a mesma direção do iniciador e não

pode ser usada como molde para os ciclos posteriores. Portanto, todas as amplificações são realizadas diretamente com base nas fitas molde originais. Com isso, é necessário dispor de mais quantidade de DNA molde para gerar um sinal fluorescente suficiente para leitura nos sequenciadores automáticos. Sendo assim, o sequenciamento é classificado como um método de amplificação linear.

Sequenciamento de alto desempenho

O método de Sanger abriu portas para o desenvolvimento de novas metodologias, no intuito de que o sequenciamento de DNA se tornasse cada vez mais eficaz e aplicável. O sequenciamento de alto desempenho, ou de nova geração (NGS, sigla do inglês para *next generation sequencing*), é uma inovação tecnológica do sequenciamento de Sanger, que aumenta o rendimento da reação ao reduzir o custo por base sequenciada. Em apenas uma reação, tais sequenciadores são capazes de ler até bilhões de fragmentos ao mesmo tempo, gerando uma quantidade enorme de dados com base em uma pequena quantidade de material biológico (*high throughput*), ao passo que um sequenciador de Sanger processa, no máximo, 96 fragmentos por vez. Existem diversas metodologias NGS disponíveis no mercado com grandes diferenças entre si, porém todos os sequenciadores de nova geração baseiam-se no processamento paralelo massivo de fragmentos de DNA. As metodologias NGS são aplicadas na identificação de novos vírus e em estudos de evolução viral, entre outros.

O conceito em todas as metodologias NGS é comum: as bases de um fragmento de DNA são sequenciadas por meio de sinais emitidos à medida que cada fragmento é ressintetizado na fita de DNA molde. As metodologias NGS estendem esse processo a milhões de reações que ocorrem de forma paralela, permitindo a produção de centenas de gigabases (Gb) de dados em uma única reação. Entretanto, o custo por reação é ainda bastante elevado, em razão do uso de reagentes como bases marcadas e complexos enzimáticos imobilizados.

No Quadro 1 comparam-se alguns aspectos entre as principais metodologias NGS existentes no mercado atualmente. A decisão sobre qual

metodologia utilizar depende dos recursos disponíveis, da infraestrutura do laboratório, da experiência dos operadores e do tipo de aplicação que está sendo considerada.

Quadro 1 – Visão geral das metodologias de sequenciamento de nova geração (NGS)

Metodologia	Tecnologia de sequencia-mento	Ano	Reação	Vantagem	Desvantagem
Ion Torrent	Semicondutores	2007	A reação de polimerização gera um próton (H^+) que altera o pH do meio, sendo detectada por um transistor e convertida em um sinal elétrico.	• Custo do equipamento • Rapidez da corrida • Diferentes chips e instrumentos	• Altas taxas de erro em regiões homopoli-méricas
Illumina	Síntese	2009	A biblioteca de fragmentos ligada a adaptadores específicos é submetida à amplificação em ponte, usando oligonucleotídeos complementares aos adaptadores. Os quatro nucleotídeos são adicionados para serem incorporados aos fragmentos, pois cada um carreia marcadores fluorescentes específicos. Um algoritmo monta a sequência final de cada fragmento, gerando valores de qualidade e removendo sequências ruins.	• Maior número de leituras por corrida e menor custo por base • Ampla gama de plataformas	• Erros de substituição • Custo do equipamento
SOLiD	Ligação	2006	Catalisado por um DNA ligase, os fragmentos são sequenciados pela ligação de sondas marcadas com fluoróforos. A fita é desnaturada e ocorre uma nova reação, repetida cinco vezes, o que permite sobrepor os resultados para decodificar toda a sequência do fragmento, reduzindo a chance de erros de sequenciamento.	• Alta acurácia (~99,99%), pois cada base é sequenciada diversas vezes.	• Deixa de detectar variantes ou detecta falsas variantes. • Realiza Leituras muito curtas (~75 pb). • Efetua corridas demoradas (podendo levar dias para serem completadas).

Quadro 1 – Visão geral das metodologias de sequenciamento de nova geração (NGS) (cont.)

Metodologia	Tecnologia de sequencia-mento	Ano	Reação	Vantagem	Desvantagem
PacBio	Molécula única em tempo real	2011	Sequenciamento pela tecnologia de síntese. As amostras ficam em micropoços translúcidos, onde é observado cada nucleotídeo sendo incorporado à fita de DNA crescente. O sinal produzido pode ser lido com o mínimo de interferência dos fluorocromos em solução, resultando no sequenciamento do DNA em tempo real.	• Fragmentos longos com uma média de ~20000 pb • Alta acurácia (~99,99%)	• Processividade limitada • Custo do equipamento • Necessidade de espaço para instalação do equipamento
MinION	Molécula única em tempo real por nanoporo	2014	Quando o DNA passa pelo nanoporo, ocorre uma mudança no padrão ou magnitude da corrente elétrica que é observada e caracterizada, pois cada nucleotídeo tem uma alteração diferente ao passar pelo nanoporo. Os dados são processados, gerando a sequência do DNA.	• Menor plataforma disponível até o momento • Útil para pesquisa em campo (rápida resposta clínica) • Poucas restrições quanto ao tamanho dos fragmentos • Custo do equipamento	• Altas taxas de erro (~30%) • Dificuldades na identificação de longos homopolímeros

Em virtude da alta sensibilidade e especificidade dos testes moleculares, além da rápida obtenção de resultados em comparação com as metodologias tradicionais, a PCR – e suas variações – vem sendo utilizada com frequência para o diagnóstico de diversas doenças, pois permite a detecção de infecções recentes. As metodologias sorológicas, tais como Elisa, que se baseiam na detecção de anticorpos gerados contra determinado antígeno, tornam-se ineficazes por ocasião do período de janela imunológica (tempo decorrido entre a infecção e o aparecimento ou a detecção de anticorpos específicos contra a infecção). Contudo, são muito úteis para vigilância epidemiológica, verificação da resposta vacinal e/ou infecções presentes ou passadas.

Logo, a decisão de qual tipo de teste deve ser realizado para o diagnóstico da infecção viral depende de inúmeros fatores, como agente viral, sintomas e período de infecção, objetivo e perguntas da pesquisa, tipo de diagnóstico, além dos recursos disponíveis e da infraestrutura do laboratório.

Bibliografia
Consultada/Sugerida

ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A. H. & PILLAI, S. *Imunologia Celular e Molecular*. 8. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2015.

ABBAS, A.; LICHTMAN, A. H. & POBER, J. S. *Imunologia Celular e Molecular*. 8. ed. Rio de Janeiro: Elsevier Saunders, 2015.

ALBERTS, B. *et al*. *Biologia Molecular da Célula*. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2010.

ALVES, E. A. & GUIMARÃES, A. C. R. Manutenção de linhagens de células animais. Manual da qualidade. Rio de Janeiro: INCQS/Fiocruz, 2008.

AMBARDAR, S. *et al*. High Throughput Sequencing: an overview of sequencing chemistry. *Indian Journal of Microbiology*, 56(4): 394-404, 2016.

ANDERSON, L. J. *et al*. Detection of antibodies and antigens of human parvovirus B19 by enzyme-linked immunosorbent assay. *Journal of Clinical Microbiology*, 24(4): 522-526, 1986.

BLUTH, M. J. & BLUTH, M. H. Molecular pathology techniques: advances in 2018. *Clinics in Laboratory Medicine*, 32(2): 215-236, 2018.

BRASIL. Ministério da Saúde. Calendário de vacinação 2020. Disponível em: <www.saude.gov.br/saude-de-a-z/vacinacao/calendario-vacinacao>. Acesso em: 24 mar. 2023.

BUSCH, M. P. *et al*. Time course of detection of viral and serologic markers preceding human immunodeficiency virus type 1 seroconversion: implications for screening of blood and tissue donors. *Transfusion*, 35(2): 91-97, 1995.

CRADOCK-WATSON, J. E. & RIDEHALGH, M. K. S. Specific immunoglobulin responses after varicella and herpes zoster. *Journal of Hygiene*, 82: 319-336, 1979.

DENIS, F. *et al*. Comparison of 10 enzyme immunoassays for detection of antibody to human immunodeficiency virus type 2 in West African sera. *Journal of Clinical Microbiology*, 26(5): 1.000-1.004, 1988.

FULTON, R. E. & MIDDLETON, P. J. Immunofluorescence in diagnosis of measles infections in children. *The Journal of Pediatrics*, 86(1): 17-22, 1975.

GOODWIN, S.; MCPHERSON, J. D. & MCCOMBIE, W. R. Coming of age: ten years of next-generation sequencing technologies. *Nature Reviews Genetics*, 17(6): 333-351, 2016.

GOOTENBERG, J. *et al*. Nucleic acid detection with CRISPR-Cas13a/C2c2. *Science*, 356(6.336): 438-442, 2017.

HAHN, A. *et al*. On detection thresholds – a review on diagnostic approaches in the infectious disease laboratory and the interpretation of their results. *Acta Tropica*, 205:105377, 2020.

KIRCHER, M. & KELSO, J. High-throughput DNA sequencing-concepts and limitations. Bioessays, 32(6): 524-536, 2010.

KNIPE, D. M. & HOWLEY, P. M. Fields Virology. 6. ed. Philadelphia: Lippincott William & Wilkins, 2013.

LENNETTE, E. H. & SMITH, T. F. Laboratory Diagnosis of Viral Infections. 3. ed. New York: Marcel Dekker, 1999.

LU, H.; GIORDANO, F. & NING Z. Oxford Nanopore MinION Sequencing and Genome Assembly. Genomics Proteomics Bioinformatics, 14(5): 265-279, 2016.

MEDZHITOV, R. & JANEWAY, C. J. Advances in immunology: innate immunity. New England Journal of Medicine, 343: 338-344, 2000.

MOROZOVA, O.; HIRST, M. & MARRA, M. A. Applications of new sequencing technologies for transcriptome analysis. Annual Review Genomics and Human Genetics, 10: 135-151, 2009.

MURPHY, K. & WEAVER, C. Imunobiologia de Janeway. 9. ed. Garland Science, 2017.

PERES, C. M. & CURI, R. Como Cultivar Células. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005.

QUAN, P. L.; SAUZADE, M. & BROUZES, E. dPCR: a technology review. Sensors, 18(4): 1.271, 2018.

SAMBROOK, J. & RUSSELL, D. W. Molecular Cloning: a laboratory manual. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2001.

SANGER, F.; NICKLEN, S. & COULSON, A. R. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 74(12): 5.463-5.467, 1977.

SANTOS, N. S. O.; ROMANOS, M. T. V. & WIGG, M. D. *Virologia Humana*. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2015.

SCHRODER, K. & TSCHOPP, J. The Inflammasomes. *Cell*, 140(6): 821-832, 2010.

TAKEUCHI, O. & AKIRA, S. Pattern recognition receptors and inflammation. *Cell*, 140(6): 805-820, 2010.

VAN DIJK, E. L. *et al*. Ten years of next-generation sequencing technology. *Trends Genetics*, 30(9): 418-426, 2014.

Viroses Emergentes e Reemergentes: considerações gerais, vírus da imunodeficiência humana e as zoonoses virais de importância no Brasil

Alexandre dos Santos da Silva • Elba Regina Sampaio de Lemos • Edson Oliveira Delatorre • Jorlan Fernandes de Jesus • Monick Lindenmeyer Guimarães

No último século observamos a emergência ou a reemergência de dezenas de patógenos ao redor do mundo, dos quais os vírus representam aproximadamente 45%. As doenças causadas por vírus são um grande problema de saúde pública, pois muitas vezes o diagnóstico ou tratamento não estão disponíveis. Apesar de complexo e multifatorial, o fenômeno de emergência e reemergência de um vírus é desencadeado, em sua maioria, por atividades humanas que interferem no meio ambiente. Dessa forma, é necessário compreender os mecanismos atrelados a esses fenômenos para que medidas de prevenção e controle adequadas sejam adotadas, considerando o impacto dos últimos eventos de emergência e reemergência viral que afligiram a espécie humana, inclusive a contínua pandemia do vírus da imunodeficiência humana (HIV), além daquelas causadas pelo vírus influenza A, como o subtipo A(H1N1)pdm09, pelos coronavírus causadores dos surtos de síndrome respiratória aguda grave (Mers, Sars e Sars-CoV-2) e os surtos do vírus ebola no continente africano e dos vírus zika e chicungunha no continente americano (Quadro 1).

Tendo em vista esse cenário e considerando que mais do que 60% das doenças emergentes/reemergentes são de origem zoonótica, é importante compreender conceitos básicos sobre viroses emergentes e reemergentes, os

principais agentes virais estritamente zoonóticos de importância no Brasil, além do HIV, também de origem zoonótica. Agentes virais definidos como emergentes ou reemergentes, como Sars-CoV-2 e influenza A H1N1, por exemplo, não serão tratados aqui.

Para o entendimento dos mecanismos associados à emergência viral, foram definidos conceitos para facilitar o diálogo e a compreensão do tema, visando a estabelecer uma linguagem comum entre o público geral, profissionais da saúde e autoridades. Na apresentação desses conceitos que será feita a seguir, leva-se em consideração que o súbito surgimento ou ressurgimento de uma virose depende de uma interação complexa de aspectos que podem influenciar a variação genética do vírus: os fatores ambientais, ecológicos, sociais, de saúde e comportamentais. É preciso considerar também que uma doença emergente ou reemergente será mais rapidamente identificada e reconhecida em regiões onde a população tem bom atendimento médico-hospitalar e baixos índices de infecções endêmicas, o que não é a realidade para a maioria dos países em desenvolvimento.

Nesse contexto, para caracterizar uma doença como emergente ou reemergente é preciso que: 1) ocorram vários casos em uma região, em um curto intervalo de tempo; 2) haja aumento da prevalência de determinada doença; 3) identifique-se um quadro clínico distinto daquele encontrado em patologias classicamente conhecidas; 4) verifique-se o surgimento de uma nova infecção previamente desconhecida; ou 5) a doença seja identificada em uma nova região geográfica ou em um novo grupo de indivíduos.

Quadro 1 – Principais viroses emergentes e reemergentes no mundo

Vírus	Distribuição
Família *Arenaviridae*, gênero *Mammarenavirus* (febre hemorrágica)	
Junín, Machupo, Guanarito, Sabiá, Chapare	América do Sul
Lassa e Lujo	África
Família *Coronaviridae*, subfamília *Orthocoronavirinae*, gênero *Betacoronavirus*	
Coronavírus associado com síndrome respiratória do Oriente Médio (Mers-CoV)	Arábia Saudita e casos importados na Europa, Estados Unidos e África
Coronavírus associados com síndrome respiratória aguda (Sars-CoV e Sars-CoV-2)	Sars-CoV – China Sars-CoV-2 – mundial
Família *Filoviridae*	
Ebolavirus e *Marburgvirus*	África
Família *Flaviviridae* (febre hemorrágica, hepatite e encefalite)	
Dengue	Mundial
Febre amarela	África, América do Sul, América Central
Nilo ocidental	Mundial
Rocio	Brasil
Vírus da doença da floresta Kyasanur	Índia
Vírus da encefalite japonesa	Predominantemente na Ásia
Vírus da encefalite transmitida por carrapatos	Europa e Estados Unidos
Zika	Mundial
Família *Hantaviridae*, gênero *Orthohantavirus*	
Andes (inclui genótipos do Brasil), Sin Nombre, Bayou, Black Creek Canal, Laguna Negra	Américas
Hantaan, Dobrava-Belgrade, Seoul	Eurásia
Hepacivirus	
Vírus da hepatite C	Mundial
Orthohepevirus	
Orthohepevirus A e C (vírus da hepatite E)	Mundial
Família *Nairovidae*, gênero *Orthonairovirus*	
Febre hemorrágica Crimeia-Congo	África, Oriente Médio e Ásia
Família *Poxviridae*, subfamília *Chordopoxvirinae*, gênero *Orthopoxvirus*	
Monkeypox	Mundial (importado)
Família *Orthomyxoviridae*	
Influenza	Mundial
Família *Orthoparamyxovirinae*, gênero *Morbillivirus*	
Sarampo	Mundial
Família *Retroviridae*, subfamília *Orthoretrovirinae*, gênero *Lentivirus*	
Vírus da imunodeficiência humana 1	Mundial
Vírus da imunodeficiência humana 2	Predominantemente na África
Família *Rhabdoviridae*, gênero *Lyssavirus*	
Vírus da raiva	Mundial
Família *Togaviridae*, gênero *Alphavirus*	
Chicungunha	Predomina na África, nas Américas e na Ásia
Mayaro	Américas
Vírus da encefalite equina venezuelana	Américas
Vírus da encefalite equina oeste	Américas

Doenças infecciosas emergentes (DIEs) são doenças infecciosas que foram recentemente identificadas na população humana, ou cuja incidência entre humanos tem aumentado nas últimas duas décadas, e que se apresentam como problema de saúde pública numa região ou em diversas partes do mundo. São exemplos a covid-19 (doença causada pelo novo coronavírus, do inglês *coronavirus disease 2019*) e a síndrome pulmonar por hantavírus (SPH), também denominada síndrome cardiopulmonar por hantavírus (SCPH). Os agentes etiológicos dessas doenças podem não ter uma descrição prévia, ser conhecidos e associados a uma nova doença ou até mesmo ser patógenos de animais que ultrapassaram a barreira interespécie.

A expressão doenças infecciosas reemergentes designa doenças que ressurgiram, expandiram-se e/ou tiveram sua incidência aumentada. Geralmente são doenças infecciosas que estavam sob controle e voltaram a causar epidemias, como a raiva, o sarampo e a febre amarela.

Aspectos que Contribuem para a Emergência Viral

A emergência ou a reemergência de doenças infecciosas é complexa e frequentemente multifatorial. Fatores biológicos do vírus e do hospedeiro, assim como hábitos humanos e suas intervenções, são determinantes para que a emergência ocorra (Quadro 2), embora nem sempre seja possível elucidar quais estavam associados.

Quadro 2 – Fatores relacionados à emergência e reemergência viral

Fatores	Variáveis
Patógeno	Mutações, deleções, recombinações, rearranjos e transferência de genes
Hospedeiro	Resposta imunológica, barreiras físicas (pele, mucosas, ácido estomacal), hábitos, história genética, doença de base como diabetes e câncer
Ambientais	Clima, uso do solo, recursos hídricos, desmatamentos, construção de barragens
Socioeconômicos	Urbanização, guerras, migração, viagens e comércio, aumento populacional, hábitos culturais e comportamentais (uso de drogas, hábitos alimentares e de higiene)
Produção de alimentos	Criação e cultivo em pequena ou larga escala, abate de animais, caça de subsistência
Avanço das tecnologias em saúde	Antivirais, transplante de órgãos, transfusão de sangue, uso de imunossupressores
Saúde pública	Vigilância em saúde, políticas públicas, saneamento, disponibilidade de vacina

Fatores intrínsecos aos vírus

Os vírus podem ser compostos de diferentes tipos de material genético – ácido desoxirribonucleico (DNA) ou ácido ribonucleico (RNA) –, ou ter uma complexa organização estrutural e diferentes configurações que determinam diversos tipos de simetria. Os vírus de RNA são os agentes etiológicos mais comuns das doenças virais emergentes, pois replicam seus genomas com menor fidelidade e, consequentemente, podem acumular um número maior de mutações. Estima-se que a frequência de erros durante a replicação dos vírus de RNA esteja em torno de 10^{-4} a 10^{-6} substituições/nucleotídeo/por infecção celular, ordens de magnitude maior do que o descrito para os vírus de DNA. Essa plasticidade genética dos vírus de RNA favorece sua maior capacidade de adaptação a novos ambientes e a novos hospedeiros.

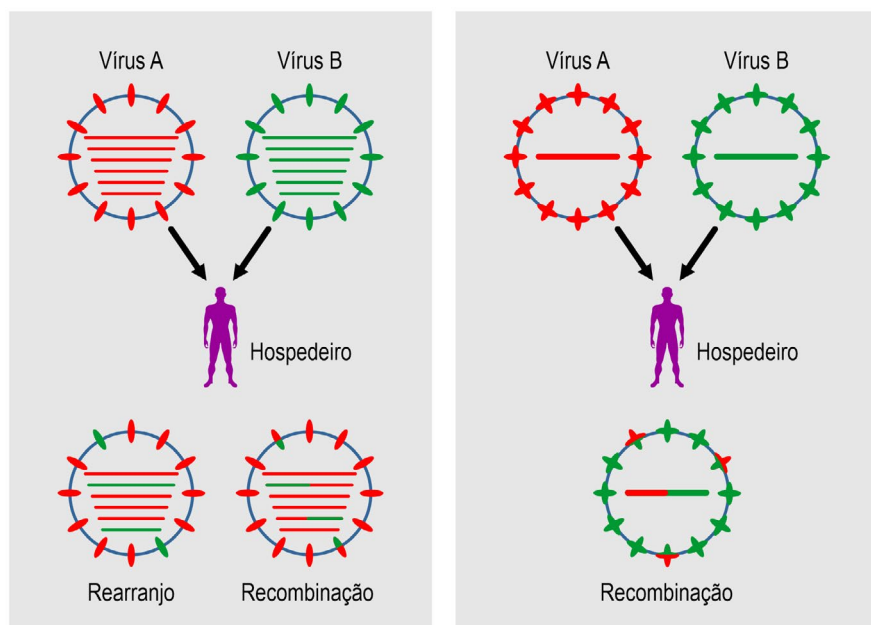
Além de evoluir a partir da substituição de nucleotídeos, os vírus frequentemente o fazem utilizando eventos de recombinação ou rearranjo do seu material genético, que podem ocorrer quando variantes virais relacionadas coinfectam uma célula simultaneamente (Figura 1). Dessa forma, esses eventos de recombinação e de rearranjo, assim como as mutações, proporcionam oportunidades à expansão de hospedeiros virais, à geração de novos vírus, à alteração da especificidade de infecção a novos hospedeiros, à mudança na virulência e na patogenicidade, à modificação do tropismo celular, à evasão da resposta imune do hospedeiro e à resistência a diferentes antivirais.

A frequência da recombinação varia bastante entre os diferentes grupos de vírus, mas, de modo geral, é alta em alguns vírus dsDNA (como os herpesvírus) e em alguns vírus de RNA (como os retrovírus). Do ponto de vista evolutivo, a recombinação tem sido apontada como um meio de ajuste que resgata o *fitness* viral ou como meio de produção de genomas altamente divergentes (mosaico entre os vírus parentais), que fornecem oportunidade de explorar o potencial de raras combinações genômicas.

Capacidade replicativa e adaptativa de um vírus.

Quanto aos vírus com genomas segmentados ou multipartidos, estes podem também evoluir tanto por recombinação quanto por meio do rearranjo de fragmentos genômicos entre vírus parentais, sendo que em

ambos os processos é necessária a coinfecção (Figura 1). Dessa forma, o rearranjo é observado exclusivamente nos vírus que têm o genoma segmentado, como os bunyavírus, orthomyxovírus e reovírus. O vírus influenza A (*Orthomyxovidae*: *Alphainfluenzavirus*), por exemplo, representa o caso mais estudado de rearranjo, em função da possibilidade de adquirir genes da hemaglutinina e/ou neuraminidase dos vírus de alguns reservatórios animais (aves ou suínos), e tem sido associado com as grandes pandemias de influenza, como a gripe espanhola de 1918 (H1N1) e a gripe de Hong Kong de 1968 (H3N2). Assim, os suínos, que têm células epiteliais com receptores para vírus influenza aviários e vírus influenza humanos, são os principais reservatórios desses patógenos, possibilitando a troca de segmentos gênicos entre vírus adaptados ao hospedeiro humano e os vírus de outras espécies hospedeiras. Como consequência dessa troca de segmentos gênicos, a nova progênie viral pode apresentar vantagem adaptativa em relação aos vírus influenza que circulavam anteriormente, uma vez que os novos antígenos de superfície passam a não ser reconhecidos ou podem ser apenas fracamente reconhecidos pelos anticorpos neutralizantes da população.

Figura 1 – Fenômenos de rearranjo e recombinação do genoma viral

Demostra-se que vírus que apresentam genomas segmentados estão sujeitos a eventos de recombinação ou rearranjo gênico, ao passo que vírus com genoma linear sofrem apenas eventos de recombinação.

Fatores relacionados à ação humana

Apesar da redução do impacto das doenças infecciosas no século XX, decorrente das melhorias da nutrição e da higiene, da disponibilidade de vacinas e de antimicrobianos, nas últimas décadas se tem observado um aumento do risco de emergência de doenças e do potencial de epidemias e mesmo de pandemias. Dentre os diversos aspectos que contribuem para esse aumento, merecem destaque a expansão da população humana e a ação antrópica no meio ambiente, que causam desequilíbrio ecológico. Assim, tanto animais silvestres quanto animais domésticos possam ser considerados reservatórios importantes das DIEs, é a influência antropogênica sobre sistemas ecológicos que determina o risco da emergência de doenças zoonóticas, principalmente na interface entre humanos e animais. Nesse contexto, áreas de maior risco para DIEs estão localizadas nas regiões onde há maior interação entre humanos e animais vertebrados e invertebrados, na presença de: 1) importantes alterações no uso da terra, particularmente aquelas relacionadas com a invasão humana em áreas florestais durante o desmatamento; 2) exposição ocupacional a animais silvestres, domésticos ou de produção e artrópodes a eles associados; 3) mudanças na demografia humana e no comportamento e instabilidade política, que resultam em deslocamento da população, entre outros.

Alterações demográficas e do comportamento humano

A emergência das doenças infecciosas, principalmente as zoonóticas, está associada às alterações ecológicas ocasionadas por práticas inadequadas de agricultura e pecuária, construção de barragens, desmatamento, queimadas que permitem a proliferação de vetores e proporcionam o deslocamento de reservatórios e o maior contato desses animais com o homem. A expansão desordenada das grandes cidades, a falta de saneamento básico e a falta de planejamento das moradias favorecem a emergência de vírus, especialmente os que são transmitidos por artrópodes e moluscos vetores e os de veiculação hídrica.

As atividades agrícola e pecuária são consideradas as principais fontes para emergência e reemergência de doenças, visto que sua contínua expansão tem promovido crescente utilização de terras, com invasão de habitats de vida selvagem. O desmatamento e a substituição da vegetação natural têm alterado a estrutura da população silvestre e os padrões de migração, com redução da biodiversidade. Esses fatores têm gerado mudanças nos ecossistemas, possibilitando maior contato da população humana e de animais domésticos com o ambiente silvestre, especialmente com vertebrados e invertebrados sinantrópicos generalistas, reservatórios de patógenos diversos, a exemplo dos vírus zoonóticos associados a doenças humanas de elevada letalidade, como hantavírus.

Espécies adaptadas a viver próximo ao homem.

Um importante exemplo é o desastre com rompimento da Barragem I da Mina Córrego do Feijão em Brumadinho, propriedade da mineradora Vale S. A., em janeiro de 2019. Fatores antrópicos, como a destruição das florestas ali existentes e a necessidade de armazenamento hídrico em reservatórios abertos após o desastre, podem ter contribuído para o aumento de arboviroses, principalmente a dengue, nessa localidade.

Comércio de animais silvestres

O comércio de animais silvestres fornece mecanismos de transmissão de doenças em níveis que não apenas causam surtos em humanos, mas também ameaçam animais, meios de subsistência, populações nativas e a saúde do ecossistema. Durante a comercialização, muitas vezes esses animais são transportados com outras espécies, incluindo animais domésticos, o que proporciona um ambiente propício para a troca de vírus entre esses animais, possibilitando a geração de novas variantes ou espécies virais, decorrente da recombinação ou do rearranjo. Nesse cenário, caçadores, negociantes intermediários e consumidores são constantemente expostos à medida que cada animal é negociado. Estudos sugerem que cerca de um bilhão de contatos diretos e indiretos entre animais selvagens, humanos e animais domésticos resulta anualmente do comércio de animais silvestres. O escopo cada vez mais global desse comércio, que serve de catalisador para a emergência de novos vírus, parece ter atuado na origem de diversos vírus, como o HIV e os Sars-CoV-1 e 2.

Viagens, migrações e o comércio internacional

A mobilidade humana foi facilitada com os meios de transporte modernos, que possibilitam o deslocamento de indivíduos infectados entre países, antes mesmo de manifestarem qualquer sintoma, durante o período de incubação de determinada doença. A migração de grandes grupos impulsionada por guerras, por desastres naturais ou por condições econômicas desfavoráveis auxilia a disseminação e a expansão de doenças recentemente introduzidas numa população ou de doenças cuja incidência é restrita a uma região. Atualmente, grandes quantidades de animais, alimentos, plantas e outros materiais têm sido transportadas pelo mundo, o que também contribui para a dispersão de vírus em questão de dias, ou até mesmo horas. Nesse cenário, as viagens foram a causa determinante para a rápida dispersão, em nível mundial, de alguns vírus como o Sars-CoV-2 e o vírus influenza pandêmico H1N1 de 2009.

Avanços na tecnologia

O avanço tecnológico na área médica, como em procedimentos de transplantes de órgãos, hemodiálise e a transfusão de sangue – métodos que são de suma importância para a saúde –, pode aumentar as chances de infecções acidentais e amplificar seus efeitos, principalmente por meio de vírus até então desconhecidos. O desenvolvimento tecnológico também possibilitou a criação e produção de novos antivirais, mas a utilização errônea e/ou indiscriminada tem levado ao surgimento de patógenos resistentes, tornando difícil o seu controle e facilitando a reemergência desses agentes.

A emergência do HIV e o primeiro surto de febre hemorrágica pelo vírus ebola foram favorecidos pela ausência e, depois, pela falha no controle de sangue e hemoderivados, assim como a prática precária de esterilização de materiais médicos, aspectos que também contribuíram na disseminação de outros agentes como o HTLV (vírus linfotrópico da célula humana), o HBV (vírus da hepatite B) e o HCV (vírus da hepatite C).

Vulnerabilidade da população e deficiência de medidas de saúde pública

A vulnerabilidade de determinada população às doenças emergentes e reemergentes é simultaneamente biológica e social. É imprescindível

levar em conta fatores como falha da resposta imunológica do hospedeiro, envelhecimento da população, condições sociais desfavoráveis como a desnutrição, ausência de saneamento básico e moradia, assim como a exposição a poluentes, toxinas, animais e seus agentes infecciosos.

Quanto à saúde pública, além da precariedade do saneamento básico, a falta de investimento na educação em saúde e a indisponibilidade de vacinas são alguns dos motivos considerados mais importantes para o surgimento de um patógeno emergente ou reemergente, principalmente nos grandes centros urbanos, como, por exemplo, em surtos de hepatite A como o que ocorreu em 2018 na comunidade do Vidigal no Rio de Janeiro. Em contextos como esse, é preciso ressaltar a fragilidade dos sistemas de vigilância epidemiológica para identificar precocemente um evento inusitado ou um comportamento atípico de determinado agravo, em decorrência seja da redução dos investimentos nas atividades de vigilância ambiental e sanitária, da inexistência de infraestrutura adequada – especialmente de um sistema de informação que permita uma atuação rápida e oportuna – ou da falta de capacitação técnica continuada e de integração com a saúde veterinária.

Agentes Zoonóticos Virais

Vários agentes zoonóticos podem ser transmitidos diretamente dos animais para os seres humanos, como, por exemplo, o vírus da raiva, transmitido pela saliva através da mordida de um animal infectado, e os hantavírus, que são transmitidos a partir de aerossóis de urina e outras secreções de roedores silvestres infectados. A transmissão também pode ocorrer indiretamente, seja por meio de alimentos e água contaminados pelos dejetos de animais infectados, como, por exemplo, o vírus da hepatite E, ou por meio de vetores, como mosquitos, pulgas e carrapatos, entre outros artrópodes infectados. Os mosquitos são vetores bem conhecidos de várias zoonoses envolvendo animais silvestres, como a febre do vale do Rift, a encefalite da Califórnia e a encefalite japonesa, ao passo que os carrapatos, pulgas e moscas são essenciais para a transmissão de outros patógenos, como, por exemplo, a febre hemorrágica Crimeia-Congo, transmitida por carrapatos. Todas são viroses zoonóticas nativas de países do Velho Mundo e dos Estados Unidos da América (EUA).

Um grande problema observado no diagnóstico das doenças de caráter zoonótico é a ausência de manifestações clínicas na maioria dos animais infectados. Assim, esses passam a constituir importante fonte silenciosa de infecção para o homem. A seguir apresentaremos brevemente, além da aids – doença de origem zoonótica cujos vírus se estabeleceram exclusivamente na população humana –, algumas das principais zoonoses virais de importância no Brasil. Foram selecionadas aquelas que não serão abordadas em outros capítulos deste livro.

Vírus da imunodeficiência humana

A infecção pelo HIV leva à deterioração progressiva do sistema imune dos humanos permitindo o desenvolvimento subsequente de infecções oportunistas que podem levar o hospedeiro à evolução clínica característica da síndrome da imunodeficiência adquirida, a aids e, consequentemente, à morte na ausência da terapia antirretroviral. A aids foi, sem dúvida, a mais importante doença zoonótica emergente do século XX. Dois tipos de HIV foram identificados em humanos: o HIV-1 e o HIV-2. O HIV-1, o tipo mais virulento e mais infeccioso, é responsável pela quase totalidade das infecções que ocorrem no mundo, ao passo que o HIV-2, menos infeccioso, restringe-se majoritariamente à África ocidental. Neste capítulo serão abordados apenas os aspectos relativos à origem zoonótica do HIV. Outros tópicos como, por exemplo, os relacionados às características clínico-epidemiológicas e patogênese desses vírus se encontram em outros capítulos.

Logo após a descoberta do HIV-1 e do HIV-2, outros vírus, coletivamente denominados vírus da imunodeficiência símia (SIV), foram detectados em diferentes primatas da África subsaariana, incluindo o macaco verde africano (*Chlorocebus sabaeus*), macacos mangabeys (*Cercocebus atys*), mandris (*Mandrillus sphinx*), chimpanzés (*Pan troglodytes*) e gorilas (*Gorilla gorila*). Esses vírus mostraram-se não patogênicos aos seus hospedeiros naturais, embora fossem muito relacionados ao HIV. Os SIVs estão presentes na África infectando seus hospedeiros símios há mais de trinta mil anos. Dessa forma, as diversas espécies símias representam um antigo e extenso reservatório de vírus, o que permite formular a hipótese da

emergência do HIV como uma possível transmissão zoonótica de vírus que infectavam símios para o ser humano. Com base em análises filogenéticas, comparando sequências do genoma das diferentes linhagens de SIV e de HIV, foi possível estudar, de forma aprofundada, a emergência do HIV na população humana, constituindo um dos melhores exemplos de como os processos de transmissão zoonótica podem ocorrer.

A estreita relação filogenética e as semelhanças na organização do genoma viral indicam que os dois tipos de HIV (HIV-1 e HIV-2) estão relacionados aos SIVs de outros primatas. Especula-se que os vírus desses hospedeiros, após terem cruzado múltiplas vezes a barreira entre as espécies, foram capazes de se estabelecer no hospedeiro humano em níveis suficientes para permitir a ocorrência de transmissão entre a população humana. Ao menos 13 transmissões zoonóticas independentes do SIV para humanos deram origem aos grupos M, N, O e P do HIV-1, ao passo que as nove restantes resultaram nas linhagens distintas do HIV-2 descritas (A-I) até o momento.

Além de determinar a fonte zoonótica do HIV-1, as análises filogenéticas também permitiram determinar a origem desse vírus no tempo e no espaço. As epidemias dos grupos M e O se originaram aproximadamente em 1910 e 1930, respectivamente, muito provavelmente ao sul de Camarões, ao passo que os grupos N e P parecem ter emergido mais recentemente, também nos Camarões, devido aos baixos níveis de diversidade genética observados. Os grupos M e N são resultantes de transmissões de vírus relacionados aos SIVs de chimpanzés (SIVcpz), ao passo que os grupos O e P estariam relacionados aos SIVs de gorilas (SIVgor). Por sua vez, a origem das diferentes linhagens do HIV-2 identificadas até o momento é atribuída a eventos de transferência zoonótica independentes do SIV de macacos *sooty mangabey* (SIVsm), distribuídos na região ocidental da África, estendendo-se do Senegal à Costa do Marfim, para o homem.

Mesmo após a identificação da origem dos principais eventos de transmissão zoonótica dos diferentes SIVs de primatas não humanos para o homem, a questão de como tais eventos ocorreram permanece em aberto. Há várias hipóteses sobre como esses eventos ocorreram, porém

uma das mais aceitas é conhecida como teoria do caçador. De acordo com essa hipótese, a transferência do SIV para humanos seria o resultado da caça de chimpanzés e outros símios infectados, tendo ocorrido a partir do consumo da carne e/ou do contato do sangue contaminado com algum ferimento do caçador. Normalmente, o sistema imunológico do hospedeiro humano recém-infectado conseguiria combater o SIV, porém, em algumas ocasiões, o vírus teria se adaptado ao novo hospedeiro, dando origem ao HIV. Cada passagem para o homem, que resultou em uma adaptação bem-sucedida ao novo hospedeiro, teria originado uma nova linhagem, e há evidência de que essas transmissões zoonóticas ainda continuam ocorrendo.

Poxvírus

Os poxvírus capazes de infectar humanos, animais domésticos e silvestres são vírus DNA de fita dupla pertencentes à família *Poxviridae*, que abriga a subfamília *Chordopoxvirinae*, constituída pelos gêneros *Moluscipoxvirus, Orthopoxvirus*, *Parapoxvirus* e *Yatapoxvirus*. Os poxvírus se replicam inteiramente no citoplasma das células hospedeiras e apresentam estrutura complexa e um genoma linear extenso que varia de 128 a 365 kbp.

São relacionadas à infecção humana 11 espécies de poxvírus: os vírus da varíola bovina (*Cowpox*, CPXV), *Vaccinia* (VACV), da varíola do macaco (*Monkeypox virus*, MPXV), da varíola (VARV), do molusco contagioso (MOCV), Orf (ORFV), da varíola do camelo (*Camelpox*, CMLV), do tumor de macaco Yaba (YMTV), Tanapox (TPV), da estomatite papular bovina (BPSV) e pseudocowpox (PCPV). As espécies de poxvírus VARV, erradicada em 1980, e o MOCV são os únicos que infectam exclusivamente humanos. Os demais poxvírus são agentes zoonóticos emergentes que afetam diferentes grupos de animais, incluindo equídeos, roedores, primatas não humanos e bovinos, entre outros.

A principal característica clínica da infecção por poxvírus são as lesões de pele, que podem variar de pequenas pápulas peroladas na infecção por MOCV a grandes crostas e pústulas generalizadas, como na infecção

pelo VARV e pelo MPXV. No entanto, outras manifestações são comuns, incluindo febre, cefaleia e erupção cutânea. Sinais clínicos semelhantes também podem ser identificados em outras espécies animais infectadas por esses vírus.

Atualmente, os ortopoxvírus se destacam em diferentes regiões do mundo, com a reemergência do CPXV na Europa, emergência do MPXV em todos os continentes (exceto a Antártica) e do VACV na Ásia e na América do Sul. Por muitos anos, o CPXV foi descrito como agente etiológico de doença apenas em vacas leiteiras que ocasionalmente acometia os ordenhadores que entravam em contato com as lesões durante a ordenha dos animais. Atualmente, sabe-se que é amplo o espectro de hospedeiros animais de CPXV e que a maioria dos casos está associada a animais de estimação, como gatos, e a roedores sinantrópicos.

O MPXV foi descrito pela primeira vez como causador de doença em macacos em um zoológico na Dinamarca em 1957. Apesar do nome *monkeypox*, estudos demonstram alta sororreatividade em roedores e esquilos de regiões endêmicas do continente africano. Alguns autores consideram que o MPXV é um agente viral que infecta animais silvestres como os esquilos e eventualmente atinge os primatas. Na década de 1970 os primeiros casos humanos de *monkeypox* foram registrados no continente africano, em mais de 11 países; um grande surto da doença foi descrito em 2017 na Nigéria.

Em 2003, nos EUA foram descritos os primeiros casos de infecção pelo MPXV em pacientes com história de contato com cães-da-pradaria (roedor da família Sciuridae) que, por sua vez, haviam sido infectados por roedores africanos importados de Gana. Em maio de 2019, o MPXV foi exportado para Israel, para o Reino Unido e para Cingapura por viajantes infectados procedentes da Nigéria. Posteriormente, após a identificação do primeiro caso de MPXV no Reino Unido, em maio de 2022, mais de 35 mil casos com 12 óbitos haviam sido confirmados no mundo, em mais de noventa países, acometendo predominantemente homens que fazem sexo com homens, embora o risco de infecção exista para qualquer pessoa exposta ao vírus, em ambiente tanto domiciliar quanto laboral.

Entre os ortopoxvírus, o VACV é o mais amplamente estudado. No entanto, várias cepas de VACV foram descritas em diferentes locais do mundo, como a sublinhagem denominada vírus *buffalopox* (BPXV) encontrada na Índia. O BPX é uma infecção viral zoonótica reemergente que afeta principalmente búfalos, mas também bovinos e humanos que entraram em contato direto com esses animais infectados, com vários surtos descritos na Índia, Paquistão, Egito, Nepal e Bangladesh.

De maneira semelhante ao ocorrido no subcontinente indiano, a circulação do VACV foi descrita em alguns países da América do Sul, incluindo Argentina, Uruguai, Colômbia e Brasil. A circulação do VACV zoonótico foi relatada pela primeira vez no Brasil em 1999. A infecção, considerada uma zoonose ocupacional, foi associada a vários surtos de doença exantemática, descritos em áreas rurais brasileiras. Conhecida popularmente como varíola bovina, a infecção ocorre principalmente em ordenhadores de gado e seus manipuladores, já que os processos envolvidos na ordenha e no manejo básico do gado representam a principal via de transmissão do VACV. Acredita-se também que a transmissão possa ocorrer por contato direto entre indivíduos suscetíveis e indivíduos que apresentem lesões por VACV. Além disso, as partículas de VACV são resistentes ao meio ambiente, permanecendo viáveis em utensílios domésticos ou associadas a matéria orgânica. Estudos indicam a possibilidade de que o leite e os produtos lácteos sejam fonte potencial de exposição e/ou transmissão do VACV, demonstrando que partículas virais podem permanecer viáveis mesmo após o leite contaminado ter sido submetido a diferentes tratamentos térmicos.

Embora a circulação do VACV seja relatada em quase todo território nacional, as descrições de casos se concentram na região Sudeste do Brasil, com maior número em Minas Gerais, provavelmente por ser o estado brasileiro que concentra os maiores rebanhos de gado leiteiro no país. Além de sua ampla distribuição, o VACV tem sido detectado em diversas espécies hospedeiras, incluindo animais de criação/produção (bovinos, equídeos e suínos), animais de companhia (cães e gatos) e animais silvestres (roedores, primatas não humanos e marsupiais).

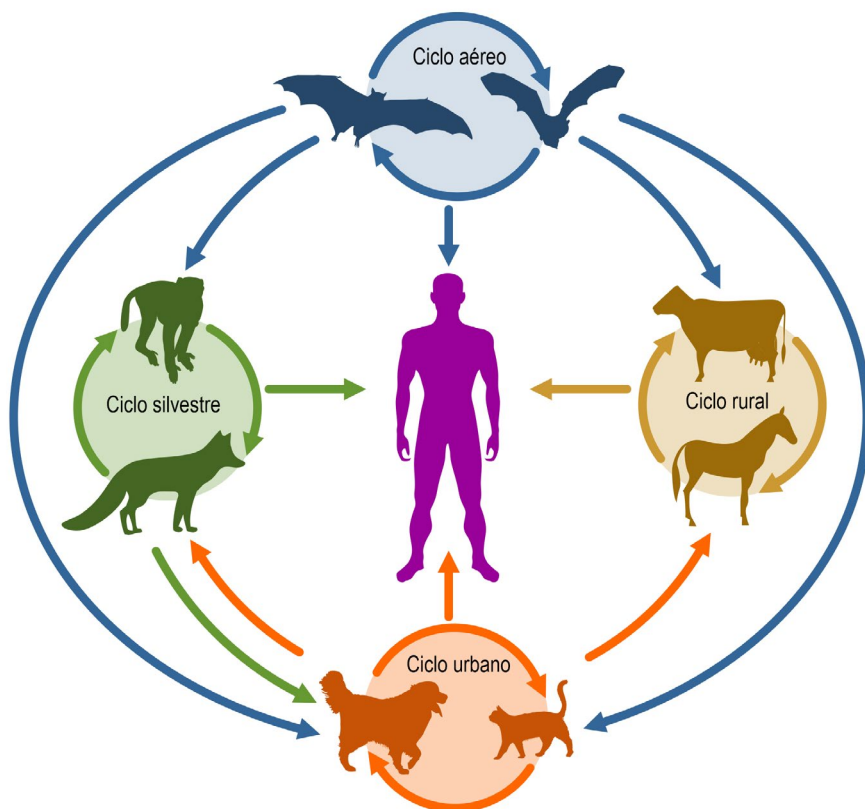
Vírus da raiva

A raiva é uma zoonose causada pelo vírus da raiva (RABV), pertencente à família *Rhabdoviridae*, gênero *Lyssavirus*, que acomete mamíferos em todos os continentes, com exceção da Antártica. A partícula viral é semelhante a um projétil, no qual o capsídio envolve o genoma viral, uma molécula de RNA de cadeia simples, linear, não segmentada de polaridade negativa. Apesar dos avanços nas técnicas de profilaxia da doença, com produção de vacinas mais imunogênicas e seguras, a Organização Mundial da Saúde estima que a raiva humana, doença 100% evitável por vacina, causa 60 mil mortes anualmente em mais de 150 países, com 90% dos casos notificados na África e na Ásia.

O vírus da raiva é transmitido para o homem por meio do contato com a saliva, arranhões ou mordidas de animais infectados, mas também do contato de mucosas íntegras ou tecido lesionado com secreções contaminadas. O ferimento causado pela mordida de um animal raivoso resulta na deposição de saliva infectada com vírus no interior dos músculos e tecidos adjacentes, servindo de porta de entrada para a infecção. No entanto, há relatos de casos de transmissão pessoa-pessoa, mas estes são raros e estão, em sua maioria, associados a transplantes de órgãos.

Apesar da eficácia da vacinação de pelo menos 70% dos cães na prevenção da morte humana por raiva, aproximadamente 99% dos casos são adquiridos a partir da mordida de um cão infectado. A exceção é a América do Sul, onde, após controle da raiva urbana, os morcegos são a principal fonte dos casos.

Na natureza, o vírus da raiva é mantido por ciclos ocasionalmente inter-relacionados, denominados ciclos urbano, silvestre, aéreo e rural (Figura 2). No ciclo urbano da raiva, estão envolvidos principalmente cães e gatos, ao passo que no ciclo silvestre têm maior importância, de forma geral, os quirópteros, raposas, guaxinins e primatas não humanos.

Figura 2 – Diferentes ciclos de transmissão do vírus da raiva

Nas últimas décadas, o perfil epidemiológico da raiva no Brasil sofreu profundas mudanças, após investimento no Programa Nacional de Profilaxia da Raiva do Ministério da Saúde, com foco principal no controle da raiva canina. Dessa forma foi possível verificar, de acordo com dados do Ministério da Saúde, importante declínio do número de casos de raiva: de 72 casos confirmados em 1990 para 45 casos de raiva humana registrados durante todo o período de 2010 a 2022. No entanto, com o controle da raiva canina, ocorreu uma mudança na forma de transmissão da doença, com a maioria dos casos de raiva humana associada a quirópteros. De fato, em 2017, dos seis casos notificados, cinco foram atribuídos à mordida por morcego, condição que tem tornado o controle da raiva mais difícil. A raiva não apresenta um comportamento uniforme no Brasil e, assim, embora

casos humanos da doença sejam notificados nas 22 unidades federativas, a maioria ocorre nas regiões Norte e Nordeste do país.

O período de incubação da doença é variável e depende de diversos fatores, como o tipo de lesão, a gravidade da laceração, a carga viral inoculada e a distância entre a porta de entrada do vírus e o sistema nervoso central. É pertinente reforçar que a profundidade da mordedura aumenta o risco de se adquirir raiva, pois o vírus somente pode infectar placas motoras musculares. No período prodrômico aparecem as primeiras manifestações clínicas, como vômito, febre, anorexia, diarreia, fotofobia e mialgia. Após esse período, o paciente desenvolve um quadro neurológico que pode se manifestar na forma furiosa, também denominada encefálica, ou na forma paralítica. Na forma furiosa ocorre excitabilidade, desorientação, alucinação, rigidez da nuca, aerofobia, espasmos de faringe, arritmias cardíacas e respiratórias, entre outras manifestações. A hidrofobia é uma manifestação característica, contudo nem todos os indivíduos infectados desenvolvem esse quadro. Os doentes que sobrevivem à fase aguda evoluem para um quadro paralítico, caracterizado por paralisia progressiva ascendente, apatia, coma e morte. Na forma paralítica, o paciente apresenta fraqueza muscular e paralisia com evolução para o coma e óbito em até 11 dias.

Intervalo de tempo desde os primeiros sinais e sintomas até o surgimento do quadro clínico específico de uma doença.

Quanto aos animais, a doença pode se manifestar de maneira diferente, dependendo da espécie do mamífero acometido. Assim, nos animais carnívoros a raiva furiosa é a mais comum, ocorrendo inquietação, prurido no local da inoculação do vírus e excitação, o que leva os animais a se tornarem agressivos, atacando e mordendo indiscriminadamente. No cão é possível observar, além da dispneia, mudança da entonação ao latir ou afonia. Em quirópteros infectados é possível observar também mudança no comportamento, caracterizada pela alimentação diurna do animal, hiperexcitabilidade, tremores, agressividade e falta de coordenação dos movimentos. Em bovinos a raiva se apresenta predominantemente na forma paralítica, na qual predomina a dificuldade na locomoção e de deglutição, além da incontinência urinária.

Falta de ar ou dificuldade de respirar.

Roboviroses

Os robovírus (do inglês *ro - rodent* e *bo - borne viruses*) são um grupo de vírus que têm os roedores como principais reservatórios. Classicamente, são incluídos nesse grupo os membros das famílias *Hantaviridae* e *Arenaviridae* (ordem *Bunyavirales*) por suas semelhanças em diversos aspectos: são vírus esféricos, envelopados, com genoma de RNA de fita simples, segmentado, de polaridade negativa. É importante ressaltar que outros vírus podem também ser transmitidos diretamente por roedores, como os poxvírus e o vírus da hepatite E.

Os robovírus são mantidos na natureza pela infecção crônica de roedores reservatórios, que mantêm o ciclo enzoótico e são transmitidos ao homem acidentalmente, principalmente pela inalação de partículas virais presentes em aerossóis formados a partir de excretas e secreções desses animais. Outras formas menos frequentes de transmissão de robovírus à espécie humana foram também descritas, como a transmissão por mordedura de roedores infectados, bem como pelo contato direto de mucosa com material contendo partículas virais. Assim, estão sob maior risco de infecção indivíduos cujas atividades favoreçam maior contato com os roedores e seus excretas, como atividades de lazer (pesca, acampamento e caça) ou profissionais, tais como as de engenheiros agrônomos, veterinários, geólogos, biólogos, mastozoólogos, guardas florestais, trabalhadores de áreas de desmatamento e de regiões de reflorestamento, entre outras.

Arenavírus

Os arenavírus são vírus bissegmentados pertencentes à família *Arenaviridae*, recentemente dividida em quatro gêneros (*Mammarenavirus*, *Reptarenavirus*, *Hartmanivirus* e *Antennavirus*). Os únicos responsáveis por causar doença em humanos são os membros do gênero *Mammarenavirus*, que serão abordados neste capítulo. Os reservatórios naturais dos mammarenavírus são em sua maioria roedores, com exceção do vírus Tacaribe, que foi encontrado em morcegos do gênero *Artibeus* e em carrapatos. Roedores da subfamília Murinae são os reservatórios dos mammarenavírus na Europa, Ásia e África, ao passo que roedores das subfamílias

Sigmodontinae e Neotominae são infectados por vírus do continente americano, apresentando infecção crônica e capacidade de transmitir o vírus vertical e horizontalmente.

A capacidade do roedor de sobreviver às infecções virais é interpretada como resultado de um longo processo evolucionário de adaptação entre o vírus e seu hospedeiro. Acredita-se que cada mammarenavírus esteja associado predominantemente a determinado reservatório em particular, e por isso a distribuição geográfica do vírus está condicionada à presença do seu reservatório. Estudos demonstram que há exceções e que um roedor pode ser reservatório de mais de um mammarenavírus, como, por exemplo, *Mastomys natalensis* no continente africano, que pode albergar tanto o vírus *Luna mammarenavirus* quanto o vírus *Lassa mammarenavirus*, agente etiológico da febre do Lassa, assim como um arenavírus pode ter mais de um reservatório, como é o caso do vírus *Bear Canyon mammarenavirus*, que pode infectar os roedores *Neotoma macrotis* e *Peromyscus californicus*. O único arenavírus com distribuição mundial é o vírus da coriomeningite linfocítica (LCMV), que tem como hospedeiro o roedor cosmopolita *Mus musculus*.

Aspectos clínico-epidemiológicos das três formas distintas de infecção por mammarenavírus são apresentados didaticamente a seguir.

- Coriomeningite linfocítica: doença febril, muitas vezes assintomática, que pode evoluir para casos de meningite asséptica e manifestações neurológicas relacionadas ao sistema nervoso central. De distribuição mundial, a maioria dos casos confirmados se concentra na América do Norte e na Europa. A doença ocorre em forma de pequenos surtos esporádicos geralmente acometendo crianças e adultos jovens, frequentemente imunossuprimidos, em que as fontes de infecção são roedores revendidos como animais de estimação. O LCMV também pode ser transmitido durante transplantes de órgãos, casos em que frequentemente a infecção é assintomática, o que faz com que o receptor imunossuprimido, ao receber o tecido infectado, apresente quadros graves de encefalite, acompanhado ou não de manifestações hemorrágicas. Além disso, a infecção pelo LCMV durante a gravidez pode levar ao

aborto e a más-formações congênitas com manifestações semelhantes às da síndrome congênita associada à infecção pelo vírus zika.

- Febre do Lassa: doença sistêmica grave com alterações na permeabilidade vascular e na vasorregulação, que ocorre de forma endêmica em países da África ocidental, mas cujo vírus tem apresentado crescente expansão geográfica no continente africano. Estima-se que ocorram aproximadamente 100 mil infecções pelo vírus Lassa (*Mammarenavirus lassaense*) todos os anos na África, com cerca de 5 mil óbitos. Em surtos hospitalares, a letalidade chega a 50%. É importante ressaltar a capacidade do vírus Lassa de ser transmitido de pessoa a pessoa; mais de uma vez esse vírus já causou surtos em hospitais na África, atingindo médicos e enfermeiras que assistiam os pacientes infectados. Casos importados de febre do Lassa já foram notificados em mais de nove países, fato que demonstra a importância do conhecimento da doença por clínicos fora do continente africano.

- Febres hemorrágicas americanas: trata-se de um grupo de doenças semelhantes à febre do Lassa, de alta letalidade, que evoluem comumente com plaquetopenia e manifestações neurológicas. Nas Américas há grande diversidade de mammarenavírus, assim como de seus roedores reservatórios. Cinco arenavírus se destacam nesse cenário:

Número reduzido de plaquetas.

1. Vírus Junín (*Mammarenavirus juninense*), agente etiológico da febre hemorrágica argentina, que historicamente acometia, aproximadamente, 3.500 indivíduos anualmente, com mortalidade de 15% a 30%. Desde sua descoberta em 1955, as áreas de abrangência da doença vêm se expandindo de 16 mil km^2 para 150 mil km^2, com mais de três milhões de pessoas vivendo em áreas de risco. É o único mammarenavírus prevenível por imunização, e sua vacina se encontra disponível apenas na Argentina, em áreas de ocorrência da febre hemorrágica argentina.
2. Vírus Machupo (*Mammarenavirus machupoense*): a febre hemorrágica boliviana foi descrita em 1959 em comunidades isoladas no

oeste da Bolívia, mas foi só em 1963 que o vírus Machupo foi isolado de amostras de fígado de um paciente. Embora nenhum caso tenha sido notificado entre 1976 e 1993, em 1994 a doença reemergiu e, desde então, pequenos surtos continuam ocorrendo. Seu reservatório natural é o roedor *Calomys* sp.

3. Vírus Guanarito (*Mammarenavirus guanaritoense*), identificado durante um surto de febre hemorrágica grave em 1989, na Venezuela, onde foi caracterizado inicialmente como dengue. Surtos esporádicos de febre hemorrágica venezuelana ocorrem dentro de áreas específicas na região central do país, onde se encontram roedores da espécie *Zygodontomys brevicauda*.
4. Vírus Chapare (*Mammarenavirus chapareense*), identificado a partir de surtos de casos ocorridos em 2008 e 2019 na Bolívia, cujo reservatório natural ainda não foi caracterizado.
5. Vírus Sabiá (*Mammarenavirus brazilense*), agente etiológico da febre hemorrágica brasileira (FHB), vem sendo isolado esporadicamente em casos fatais no estado de São Paulo. O primeiro caso foi identificado em 1990, no município de Cotia e, a partir deste caso, dois outros não fatais de infecção laboratorial ocorreram durante as tentativas de isolamento do vírus em cultura celular. Em 1999, um caso fatal hemorrágico no município de Espírito Santo do Pinhal foi associado ao vírus Sabiá, e recentemente, após vinte anos, em 2019 e 2022, o vírus foi identificado novamente em dois casos no estado de São Paulo.

O Brasil se destaca no cenário mundial, com nove espécies de mammarenavírus descritas, em seis estados (Quadro 3), mas contraditoriamente pouco se sabe sobre a distribuição geográfica e a dinâmica desses vírus em seus reservatórios e na população humana.

Quadro 3 – Mammarenavírus identificados no Brasil

Vírus	Roedor reservatório	Associado a doença	Distribuição
Amapari	*Neacomys guianea*	-	Amapá
Aporé	*Olygoryzomys mattogrossae*	-	Mato Grosso do Sul
Cupixi	*Hylaeamys megacephalus*	-	Amapá
Flexal	*Oryzomys sp.*	-	Pará
Latino	*Calomys callosus* *Calomys callidus*	-	Mato Grosso e Mato Grosso do Sul
Pinhal	*Calomys tener*	-	São Paulo
Oliveros	*Necromys lasiurus*	-	Mato Grosso do Sul
Sabiá	Não identificado	Febre hemorrágica	São Paulo
Xapuri	*Neacomys musseri*	-	Acre

Hantaviroses

Os orthohantavírus conhecidos como patógenos humanos, assim como os mammarenavírus, pertencem à ordem *Bunyavirales*. Estão classificados na família *Hantaviridae*, subfamília *Mammantavirinae*, atualmente constituída por quatro gêneros, *Loanvirus*, *Mobatvirus*, *Orthohantavirus* e *Thottinvirus*, sendo os orthohantavírus o grupo mais amplamente estudado.

Os orthohantavirus são vírus envelopados, com genoma trissegmentado de RNA de fita simples com polaridade negativa, contendo um segmento pequeno (*small* ou S), que varia de 1,7 a 2,1 kb, um segmento médio (*medium* ou M), que varia de 3,7 a 5,6 kb, e um grande (*large* ou L), que varia entre 6,5 e 6,6 kb.

As infecções causadas por orthohantavírus, consideradas de ocorrência mundial, estão associadas principalmente a roedores silvestres e sinantrópicos de diferentes espécies. Os roedores da ordem Rodentia, famílias Muridae e Cricetidae são os hospedeiros e reservatórios naturais dos orthohantavírus. Em relação à distribuição geográfica, os muríneos são endêmicos na Eurásia, com exceção das espécies *Rattus norvegicus*, *Rattus rattus* e *Mus musculus*, que apresentam distribuição cosmopolita.

Os roedores da subfamília Arvicolinae apresentam ampla distribuição no hemisfério norte, ocorrendo na Eurásia até a América do Norte, ao passo que os sigmodontíneos só ocorrem nas Américas, onde são hospedeiros dos orthohantavírus.

A infecção causada pelo orthohantavírus no roedor reservatório caracteriza-se pela ausência de doença e pela capacidade de estabelecer uma infecção persistente, que pode durar meses ou anos. A transmissão horizontal parece ser a via mais importante de infecção entre os roedores. Há correlação positiva entre idade e prevalência de anticorpos, assim como alta prevalência em machos, principalmente nos que possuem cicatrizes. Esse padrão tem se repetido em vários reservatórios, de diferentes áreas, sugerindo que a competição e as agressões têm importante papel na transmissão do vírus entre seus reservatórios.

A infecção humana por orthohantavírus, ou hantavirose, apresenta-se sob duas formas clínicas, cujos aspectos clínico-epidemiológicos são os que se seguem.

- Febre hemorrágica com síndrome renal (FHSR) – um complexo de doenças infecciosas agudas, de caráter epidêmico, que ocorre na Eurásia, caracterizado pela presença de febre, hemorragia e insuficiência renal. A incidência anual é de 150 mil a 200 mil casos, com taxa de letalidade que varia de 0,2% a 10% na dependência da espécie viral; mais da metade dos casos se encontra concentrada na China. Reconhecida como doença ocupacional, os casos da FHSR ocorrem predominantemente em áreas rurais, com exceção da espécie *Seoul orthohantavirus*, já identificado em roedor no território brasileiro, cuja ocorrência é basicamente urbana.
- Síndrome pulmonar por hantavírus (SPH) ou síndrome cardiopulmonar por hantavírus (SCPH) – doença emergente descrita em diversos países do continente americano. Caracterizada por manifestação respiratória com disfunção cardiovascular, ocorre exclusivamente nas Américas, onde se encontram roedores silvestres reservatórios para os diversos orthohantavírus. A SPH foi caracterizada pela primeira vez no ano 1993 em um surto no

> sudoeste dos EUA. Em novembro e dezembro daquele ano, três casos da SPH foram diagnosticados na área rural do município de Juquitiba, estado de São Paulo, constituindo o primeiro registro clínico no Brasil. Em seguida a SPH passou a ser reconhecida em outros países da América Latina, com subsequente isolamento de novas espécies, ou genótipos, que se encontram amplamente distribuídos nas Américas.

No Brasil, desde o reconhecimento dos primeiros casos em 1993 até os primeiros meses de 2022, foram notificados mais de 2 mil casos da doença, com uma taxa de 40% de letalidade. A ocorrência dos casos de SPH varia entre as regiões brasileiras, sendo mais frequente principalmente nos estados das regiões Sul, Sudeste e Centro-Oeste, especialmente nos estados de Santa Catarina, Minas Gerais, Mato Grosso, Paraná e São Paulo, com comportamento sazonal variado, dependendo da região. Indivíduos do sexo masculino e na faixa etária de 20 a 39 anos são os mais acometidos pela doença. A maioria dos casos ocorre na zona rural, durante a realização de atividades laborais, especialmente aquelas relacionadas à agricultura, como, por exemplo, as culturas de milho, o plantio de soja, de arroz, capins braquiárias, colonião e cana-de-açúcar. Além do plantio, a colheita, o transporte, o armazenamento e a moagem de grãos são também considerados atividades de risco. Assim, muitas vezes o ambiente de infecção com maior destaque é o local de trabalho, seguido pelo doméstico. As situações de risco mais relatadas são aquelas que envolvem a limpeza de ambientes infestados de ratos, especialmente após se manterem fechados por longos períodos, pelo contato direto com roedores ou seus vestígios, com a moagem e o armazenamento de grãos, além da organização de fardos de lenha e capim.

Quanto à manifestação clínica, após um período médio de incubação de 15 a 18 dias, o paciente apresenta um quadro semelhante ao da influenza, que evolui posteriormente, em torno do quinto dia, para uma fase cardiopulmonar caracterizada por tosse sem expectoração, podendo desenvolver também dispneia, hipoxemia, taquipneia e evoluir rapidamente para insuficiência respiratória aguda, choque e óbito na ausência de suporte de uma unidade intensiva. Os pacientes que se recuperam seguem para uma fase caracterizada

Baixo nível de oxigênio no sangue.

Respiração acelerada.

pelo aumento da diurese, que, após a etapa de convalescência, pode ainda durar meses. Confundida com uma série de doenças infecciosas, maior atenção precisa ser dada a casos suspeitos de dengue cujo tratamento, com base na reposição hídrica do paciente, piora o quadro respiratório da SPH, potencializando o desfecho fatal.

Até a presente data, foram caracterizados no Brasil nove genótipos de orthohantavírus, dos quais seis associados a casos de SPH/SCPH: 1) vírus Juquitiba (*Oligoryzomys nigripes*), 2) vírus Araraquara (*Necromys lasiurus*), 3) vírus Laguna Negra (*Calomys callidus*), 4) vírus Castelo dos Sonhos (*Oligoryzomys utiaritensis*), 5) vírus Anajatuba (*Oligoryzomys mattogrossae*) e 6) vírus Rio Mamoré (*Oligoryzomys microtis*), sendo seus respectivos roedores reservatórios. Os outros genótipos sem associação com doença humana, vírus Rio Mearim e Jabora, foram identificados em roedores das espécies *Holochilus sciureus* e *Akodon montensis*, respectivamente. *Seoul orthohantavirus*, isolado na década de 1980 de um roedor da espécie *Rattus norvegicus* coletado no estado do Pará, também foi associado com a FHSR.

Bibliografia
Consultada/Sugerida

Viroses emergentes e reemergentes: considerações gerais

ALLEN, T. *et al.* Global hotspots and correlates of emerging zoonotic diseases. *Nature Communications*, 8(1): 1.124, 2017.

BORDES, F.; BLASDELL, K. & MORAND, S. Transmission ecology of rodent-borne diseases: new frontiers. *Integrative Zoology*, 10(5): 424-435, 2015.

CUTLER, S. J.; FOOKS, A. R. & VAN DER POEL, W. H. Public health threat of new, reemerging, and neglected zoonoses in the industrialized world. *Emerging Infectious Diseases*, 16(1): 1-7, 2010.

GEOGHEGAN, J. L. & HOLMES, E. C. Predicting virus emergence amid evolutionary noise. *Open Biology*, 7(10), 2017.

GIFFORD, R. J. Viral evolution in deep time: lentiviruses and mammals. *Trends in Genetics*, 28(2): 89-100, 2012.

GRUBAUGH, N. D. *et al*. Tracking virus outbreaks in the twenty-first century. *Nature Microbiology*, 4(1):10-19, 2019.

JOHNSON, C. K. *et al*. Global shifts in mammalian population trends reveal key predictors of virus spillover risk. *Proceedings. Biological Sciences*, 287(1.924): 20192736, 2020.

JONES, B. A. *et al*. Zoonosis emergence linked to agricultural intensification and environmental change. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, 110(21): 8.399-8.404, 2013.

JONES, K. E. *et al*. Global trends in emerging infectious diseases. *Nature*, 451(7.181): 990-993, 2008.

KARESH, W. B. *et al*. Wildlife trade and global disease emergence. *Emerging Infectious Diseases*, 11(7): 1.000-1.002, 2005.

PÉREZ-LOSADA, M. *et al*. Recombination in viruses: mechanisms, methods of study, and evolutionary consequences. *Infection, Genetics and Evolution*, 30: 296-307, 2015.

SCHATZMAYR, H. G. Viroses emergentes e reemergentes. *Cadernos de Saúde Pública*, 17: S209-S213, 2001.

VARSANI, A. *et al*. Notes on recombination and reassortment in multipartite/segmented viruses. *Current Opinion in Virology*, 33: 156-166, 2018.

WOO, P. C.; LAU, S. K. & YUEN, K. Y. Infectious diseases emerging from Chinese wet-markets: zoonotic origins of severe respiratory viral infections. *Current Opinion Infectious Disease*, 19(5): 401-407, 2006.

Vírus da imunodeficiência humana

D'ARC, M. *et al*. Origin of the HIV-1 group O epidemic in western lowland gorillas. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, 112(11): E1.343-E1.352, 2015.

GAO, F. *et al*. Origin of HIV-1 in the chimpanzee pan troglodytes troglodytes. *Nature*, 397(6.718): 436-441, 1999.

MOORE, J. The puzzling origins of Aids. *American Scientist*, 92(6): 540, 2004.

PEPIN, J. *The Origins of Aids*. Cambridge: Cambridge University Press, 2011.

SHARP, P. M. & HAHN, B. H. Origins of HIV and the Aids pandemic. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 1(1): a006841, 2011.

Poxvírus

ESSBAUER, S.; PFEFFER, M. & MEYER, H. Zoonotic poxviruses. *Veterenary Microbiology*, 140(4): 229-236, 2010.

HALLER, S. L. *et al.* Poxviruses and the evolution of host range and virulence. *Infection, Genetics and Evolution*, 21: 15-40, 2014.

KROON, E. G. *et al.* Zoonotic Brazilian Vaccinia virus: from field to therapy. *Antiviral Res*, 92(2): 150-163, 2011.

LIMA, M. T. *et al.* An update on the known host range of the Brazilian vaccinia virus: an outbreak in Buffalo Calves. *Frontiers in Microbiology*, 9: 3.327, 2019.

MEDAGLIA, M. L. *et al.* Genomic analysis, phenotype, and virulence of the historical Brazilian smallpox vaccine strain IOC: implications for the origins and evolutionary relationships of vaccinia virus. *Journal of Virology*, 89(23): 11.909-11.925, 2015.

OLIVEIRA, G. P. *et al.* Poxvirus host range genes and virus-host spectrum: a critical review. *Viruses*, 9(11): E331, 2017.

OLIVEIRA, J. S. *et al.* Vaccinia virus natural infections in Brazil: the good, the bad, and the ugly. *Viruses*, 9(11): E340, 2017

OLIVEIRA, T. M. L. *et al.* Vaccinia virus detection in dairy products made with milk from experimentally infected cows. *Transboundary and Emerging Diseases*, 65(1): e40-47, 2018.

PETERSEN, E. *et al.* Human Monkeypox: epidemiologic and clinical characteristics, diagnosis, and prevention. *Infectious Disease Clinics of North America*, 33(4): 1.027-1.043, 2019.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Disease outbreak news; multi-country monkeypox outbreak in non-endemic countries, 2022. Disponível em: <www.who.int/emergencies/disease-outbreak-news/item/2022-DON385>. Acesso em: 12 abr. 2022.

Vírus da raiva

BAQUERO, O. S. & QUEIROZ, M. R. Size, spatial and household distribution, and rabies vaccination coverage of the Brazilian owned-dog population. *Transboundary and Emerging Diseases*, 66(4): 1.693-1.700, 2019.

BENAVIDES, J. A. *et al.* An evaluation of Brazil's surveillance and prophylaxis of canine rabies between 2008 and 2017. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 13(8): e0007564, 2019.

CAMPOS, A. A. S. *et al*. Rabies surveillance in wild mammals in South of Brazil. *Transboundary and Emerging Diseases*, 67(2): 906-913, 2020.

FREIRE DE CARVALHO, M. *et al*. Rabies in the Americas: 1998-2014. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 12(3): e0006271, 2018.

KOTAIT, I. *et al*. Non-human primates as a reservoir for rabies virus in Brazil. *Zoonoses Public Health*, 66(1): 47-59, 2019.

ROCHA, S. M. *et al*. Epidemiological profile of wild rabies in Brazil (2002-2012). *Transboundary and Emerging Diseases*, 64(2): 624-633, 2017.

VARGAS, A.; ROMANO, A. P. M. & MERCHÁN-HAMANN, E. Human rabies in Brazil: a descriptive study, 2000-2017. *Epidemiologia e Serviços de Saúde*, 28(2): e2018275, 2019.

Arenavírus

AMBROSIO, A. *et al*. Argentine hemorrhagic fever vaccines. *Human Vaccines & Immunotherapeutics*, 7(6): 694-700, 2011.

CHARREL, R. N. & DE LAMBALLERIE, X. Zoonotic aspects of arenavirus infections. *Veterenary Microbiology*, 140(3-4): 213-220, 2010.

DELGADO, S. *et al*. Chapare virus, a newly discovered arenavirus isolated from a fatal hemorrhagic fever case in Bolivia. *PLoS Pathogens*, 4(4): e1000047, 2008.

FERNANDES, J. *et al*. Aporé virus, a novel mammarenavirus (Bunyavirales: Arenaviridae) related to highly pathogenic virus from South America. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 114: e180586, 2019.

FERNANDES, J. *et al*. Xapuri virus, a novel mammarenavirus: natural reassortment and increased diversity between new world viruses. *Emerging Microbes & Infections*, 7(1): 120, 2018.

MANZIONE, N. *et al*. Venezuelan hemorrhagic fever: clinical and epidemiological studies of 165 cases. *Clinical Infectious Diseases*, 26(2): 308-313, 1998.

PATTERSON, M.; GRANT, A. & PAESSLER, S. Epidemiology and pathogenesis of Bolivian hemorrhagic fever. *Current Opinion in Virology*, 5: 82-90, 2014.

PONTREMOLI, C.; FORNI, D. & SIRONI, M. Arenavirus genomics: novel insights into viral diversity, origin, and evolution. *Current Opinion in Virology*, 34: 18-28, 2019.

Hantaviroses

FONSECA, L. X.; OLIVEIRA, S. V. & DUARTE, E. C. Magnitude and distribution of deaths due to hantavirus in Brazil, 2007-2015. *Epidemiologia e Serviços de Saúde*, 27(2): e2017221, 2018.

GUTERRES, A. *et al*. The mystery of the phylogeographic structural pattern in rodent-borne hantaviruses. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 136: 35-43, 2019.

KRUGER, D. H. *et al*. Hantaviruses-globally emerging pathogens. *Journal of Clinical Virology*, 64: 128-136, 2015.

MUYLAERT, R. L. *et al*. Spatiotemporal dynamics of hantavirus cardiopulmonary syndrome transmission risk in Brazil. *Viruses*, 11(11): E1008, 2019.

OLIVEIRA, R. C. *et al*. A fatal hantavirus pulmonar syndrome misdiagnosed as dengue: an investigation into the first reported case in Rio de Janeiro state, Brazil. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 97: 125-129, 2017.

OLIVEIRA, R. C. *et al*. Hantavirus reservoirs: current status with an emphasis on data from Brazil. *Viruses*, 6(5): 1.929-1.973, 2014.

PINTO JR., V. L. *et al*. Twenty years of hantavirus pulmonary syndrome in Brazil: a review of epidemiological and clinical aspects. The *Journal of Infection in Developing Countries*, 8(2): 137-142, 2014.

PINTO, V. L.; SOUSA, A. I. & LEMOS, E. R. Regional variations and time trends of hantavirus pulmonary syndrome in Brazil. *Epidemiology and Infection*, 142(10): 2.166-2.171, 2014.

PRIST, P. R.; ANDREA, P. S. D. & METZGER, J. P. Landscape, climate and hantavirus cardiopulmonary syndrome outbreaks. *Ecohealth*, 14(3): 614-629, 2017.

4

Viroses de Transmissão Respiratória

Ana Cláudia Pereira Terças Trettel • Elba Regina Sampaio de Lemos • Jaline Alves Cabral da Costa • Livia Melo Villar • Natália Maria Lanzarini • Priscila da Silva Born

As infecções do trato respiratório estão entre os três principais problemas de saúde pública que atingem a infância, acompanhadas das doenças diarreicas e da desnutrição infantil. Além das crianças, a população de risco é formada por imunocomprometidos, idosos, gestantes e portadores de doenças crônicas.

Neste capítulo, trataremos dos vírus influenza, dos coronavírus e do vírus sincicial respiratório, os principais vírus respiratórios de importância médica, além dos rinovírus, vírus da parainfluenza e metapneumovírus. Apesar de não serem considerados vírus respiratórios, faremos uma breve revisão sobre os vírus do sarampo, rubéola, parotidite epidêmica (caxumba) e da varicela, considerando que sua transmissão se dá por secreções das vias respiratórias e que são viroses imunopreveníveis de grande impacto na saúde pública, não somente no Brasil, mas no mundo.

Assim, além da similaridade quanto à forma de transmissão, isto é, a infecção se transmite de pessoa a pessoa, o diagnóstico laboratorial dessas viroses é realizado, de uma forma geral, com base em amostras clínicas, como o aspirado de nasofaringe (ANF) ou *swab* combinado (nasal/oral), como descrito a seguir. No Quadro 1, apresentamos as principais características dos vírus de transmissão respiratória.

Quadro 1 – Principais características dos vírus respiratórios

Agente viral (genoma)	Doença	Faixa etária	Epidemiologia
Adenovírus (DNA)	• faringite • Ivas • pneumonia • FFC	• Crianças < 2 anos	• Responsável por 10% das infecções respiratórias de crianças < 2 anos. • Mais frequente no Brasil na primavera. • Período de incubação: dois a cinco dias.
Coronavírus (RNA)	• Ivas • resfriado comum • Sars	• Todas as faixas etárias	• Responsáveis por > 30% dos resfriados comuns, ocorrendo mais no inverno e início da primavera. • Sars-CoV e Mers-CoV – origem zoonótica. • Período de incubação: dois a cinco dias.
Influenza (RNA)	• gripe • rinofaringite • Ivas	• Todas as faixas etárias • Maior gravidade em menores de 5 anos e maiores de 65 anos	• Os vírus influenza A (vírus zoonótico) e B causam epidemias sazonais. • Os vírus influenza A são os responsáveis pelas grandes pandemias. • Período de incubação: um a quatro dias.
Metapneumovírus (RNA)	• bronquiolite (semelhante ao VSR) • pneumonia • Ivas	• Todas as faixas etárias, com maior acometimento de crianças < 2 anos	• Distribuição sazonal nas regiões Sudeste e Sul nos meses mais frios e no Norte e Nordeste no período de chuva. • Período de incubação: dois a cinco dias.
Parainfluenza (RNA)	• crupe (laringotraqueo-bronquite)	• Todas as faixas etárias, com maior acometimento de crianças > 5 anos	• O crupe é causado principalmente pelo tipo 1. • Período de incubação: quatro a cinco dias. • O tipo 3 é endêmico; os tipos 1 e 2 causam epidemias no outono.
Rinovírus (RNA)	• Ivas		• Período de incubação: oito a 12 horas. • Ocorre em todo o ano, com pico no inverno e na primavera.
VSR (RNA)	• bronquiolite • pneumonia • Ivas	• Mais comum em crianças < 2 anos e idosos	• Pico de incidência é no outono e no início do inverno • Período de incubação: dois a oito dias.

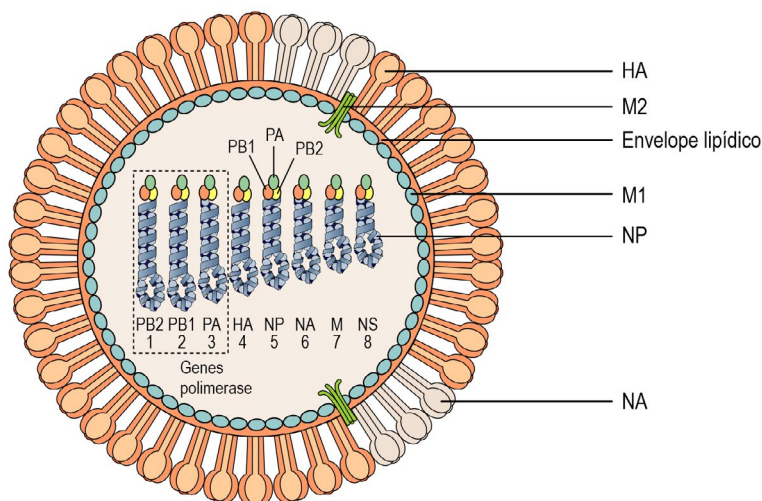
Siglas: infecção das vias aéreas superiores (Ivas); febre faringoconjuntival (FFC); síndrome da angústia respiratória grave (Sars); vírus sincicial respiratório (VSR).

Vírus da Influenza

O vírus da influenza pertence à família *Orthomyxoviridae*, que se divide em quatro gêneros: 1) *Alphainfluenzavirus*, espécie *influenza virus A*; 2) *Betainfluenzavirus*, espécie *influenza virus B*; 3) *Deltainfluenzavirus*, espécie *influenza virus D*; 4) *Gammainfluenzavirus*, espécie *influenza virus C*. *Influenza virus A* e *influenza virus B* são as espécies de maior importância epidemiológica, devido às mutações pontuais que originam diferentes cepas virais, a cada ano ou período epidêmico (influenza sazonal), provocando impactos econômicos substanciais em razão dos custos de prevenção, tratamento e afastamentos do trabalho. Os vírus influenza A são ainda responsáveis por causar pandemias (influenza pandêmico) por causa de sua capacidade de infectar diferentes espécies hospedeiras e da possibilidade de rearranjo gênico. Os vírus da influenza C, apesar de circularem em humanos, não causam doença grave; e descreveu-se que os vírus da influenza D podem circular em gado – em estudos sorológicos evidenciou-se que trabalhadores em contato diretamente com esses animais tinham anticorpos.

A antigenicidade do vírus da influenza é definida pelas glicoproteínas do envelope hemaglutinina (HA) e neuraminidase (NA), classificadas em 18 subtipos de HA e 11 subtipos NA. Ao passo que a HA permite a penetração do vírus na célula, por meio da ligação com o ácido siálico nas células do trato respiratório, a NA cliva o ácido siálico no fim da replicação, liberando o vírus e permitindo que ele infecte novas células. O vírus tem morfologia pleomórfica e diâmetro de 80-120 nm com genoma composto de oito segmentos de RNA fita simples de polaridade negativa (Figura 1).

A nomenclatura utilizada para identificar os vírus da influenza é definida da seguinte maneira: espécie do vírus/hospedeiro (se não for humano)/região geográfica de isolamento/número da amostra/ano do isolamento da amostra (subtipo viral no caso dos vírus influenza A). Por exemplo, o vírus influenza pandêmico H1N1 de 2009 tem a seguinte nomenclatura: A/California/04/2009 (H1N1).

Figura 1 – Representação esquemática da partícula viral do vírus da influenza

Formas de transmissão

O vírus da influenza humano pode ser transmitido através do contato direto com indivíduos infectados por tosse ou espirro, pela inalação das partículas virais e pelo contato com material contaminado (fômites). Entre animais, a infecção pelo vírus da influenza aviária ocorre pelo contato com secreções nasais, olhos, boca e excrementos de aves infectadas, sendo a principal forma de transmissão.

A gripe também é considerada uma zoonose pelo contato direto com esses animais ou com suas fezes infectadas, mas não há relatos de que a carne desses animais bem cozidas sejam fonte de contaminação pelo vírus da influenza. Apesar de ser um evento raro, com poucos relatos e com transmissão limitada, é possível a transmissão da gripe aviária entre humanos. Esse fato representa um grande risco, uma vez que o vírus pode sofrer mutações e, dessa forma, conseguir se adaptar para ser transmitido entre humanos, o que tornaria fácil a sua disseminação na população.

Patogenia e manifestações clínicas

O período de incubação varia, geralmente, de um a quatro dias. A transmissão já é possível um a dois dias antes do início dos sintomas e permanece por até cinco dias após o início dos sintomas, na população em geral. No entanto, a transmissão do vírus da gripe depende, além do tipo viral, de fatores do hospedeiro, como idade, sistema imune, condições de saúde. Pessoas imunocomprometidas podem excretar o vírus por um longo período, que pode chegar a meses.

O quadro clínico varia desde casos assintomáticos até casos que evoluem para óbito. Em sintomáticos, os sinais e sintomas podem ser respiratórios, como tosse, dor de garganta, coriza, conjuntivite, rouquidão, e/ou sistêmicos, acompanhados de febre, cefaleia, mialgia, artralgia e mal-estar generalizado. Um agravamento dos sintomas é a síndrome respiratória aguda grave (SRAG), caracterizada por febre superior a 38 °C, tosse e dispneia. Complicações da infecção por influenza incluem: sinusite, pneumonia e infecções secundárias por bactérias.

Diagnóstico

O diagnóstico laboratorial do vírus da influenza sazonal deve ser realizado na fase aguda da doença, ou seja, entre o terceiro e o sétimo dia após o início dos primeiros sintomas. Os testes de diagnóstico têm importância epidemiológica, especialmente durante surtos e epidemias sazonais, para diferenciar o vírus circulante e para direcionar a atualização das cepas vacinais.

As amostras clínicas preconizadas pela Organização Mundial da Saúde (OMS) para realizar o diagnóstico da gripe são o aspirado de nasofaringe (ANF) ou *swab* combinado (nasal/oral). O diagnóstico molecular por transcrição reversa seguida de reação em cadeia da polimerase (RT-PCR) em tempo real apresenta elevada taxa de sensibilidade e especificidade, sendo, portanto, o mais utilizado para o diagnóstico dos vírus influenza e considerado o padrão-ouro.

Os testes rápidos são capazes de detectar se o indivíduo tem anticorpos imunoglobulina M (IgM) ou imunoglobulina G (IgG) entre 10 e 30 minutos, servindo para auxiliar o diagnóstico e o manejo clínico dos pacientes, e podem ser realizados sem treinamento específico e equipamentos. Entretanto, comumente esses testes rápidos permitem apenas a detecção dos vírus da influenza A ou B, além de não serem adequados para o diagnóstico rotineiro, devido à baixa sensibilidade (50-70%) em comparação com a RT-PCR em tempo real.

Outro teste muito utilizado é a imunofluorescência, por ser um método rápido e sensível que utiliza amostras clínicas diretamente ou isolados. Por esse teste, é possível identificar os vírus da influenza tipos A e B, e, ainda, adenovírus, parainfluenzavírus, vírus sincicial respiratório (VSR) e metapneumovírus.

Termo que se utiliza para designar o vírus que foi isolado de um paciente.

O diagnóstico sorológico é essencial para estudos epidemiológicos e imunológicos. É muito utilizado em pesquisas sobre a avaliação da resposta de anticorpos em determinada população após a vacinação.

Epidemiologia

Apesar de o vírus influenza ter sido descrito apenas em 1933, há diversos relatos de surtos de doença respiratória durante a história, em períodos anteriores a esse, alguns tão bem documentados que não deixam dúvida de que esses surtos eram uma epidemia de gripe. O primeiro relato sobre uma epidemia de influenza foi realizado por Hipócrates, em 412 a.C. Após o início do século XVIII, houve aumento da quantidade e da qualidade dos dados, incluindo total de pessoas e países afetados. Entretanto, a primeira grande pandemia bem documentada data de 1918, e outros eventos pandêmicos ocorreram em 1957, 1968 e 2009.

A gripe espanhola, como ficou popularmente conhecida a pandemia de influenza A/H1N1, aconteceu em 1918-1919 e matou pelo menos cinquenta milhões de pessoas no mundo. No início do ano 1957, um surto de influenza foi identificado em Hong Kong. O novo subtipo de influenza A rearranjado continha os segmentos gênicos originários de influenza aviária,

produzindo esse novo subtipo A/H2N2. Popularmente conhecida como gripe asiática, estima-se que o número de óbitos relacionados à pandemia tenha sido de 1,5 milhão.

Depois de 11 anos da gripe asiática, a história se repetiu com a emergência de um novo subtipo viral, o HA. Esse vírus contava com seis segmentos virais do subtipo A/H2N2 e dois segmentos (genes HA e PB1) provenientes de um vírus de origem aviária. A gripe de Hong Kong ocasionou a morte de aproximadamente um milhão de pessoas. Desde então, o vírus A/H3N2 circula sazonalmente na população humana levando a epidemias anuais.

A primeira pandemia do século XXI ocorreu entre os anos 2009 e 2010 com a emergência de uma nova linhagem de influenza A/H1N1, popularmente chamada de gripe suína, originária de um rearranjo genético entre vírus de origens suína, aviária e humana. No Brasil, os primeiros casos foram identificados no início de maio de 2009, e todos os indivíduos tinham histórico de viagem para o exterior, ou seja, eram casos importados. Entretanto, apesar dos esforços dos serviços de vigilância, no dia 16 de julho de 2009 foi declarada a transmissão sustentada do vírus A/H1N1pdm09 no Brasil. Naquele ano, foram registrados mais de 18 mil óbitos em todo o mundo, e o Brasil registrou 2.051 óbitos pelo vírus A/H1N1pdm09.

Os vírus com maior potencial pandêmico são os subtipos de origem aviária, H5, H7 e H9. Já foram reportados vários casos de infecção em seres humanos após contato com aves domésticas infectadas. O vírus A/H5N1, considerado altamente patogênico pela elevada taxa de mortalidade em seres humanos, já ocasionou milhares de infecções em aves e centenas de casos em pessoas, e o primeiro surto aconteceu em 1997 em Hong Kong, espalhando-se pela Ásia e Europa. Outro subtipo altamente patogênico, o A/H7N9, já levou centenas de pessoas a óbito na China. Desde 2009 os subtipos A/H3N2 e A/H1N1pdm09 cocirculam sazonalmente na população. O vírus da gripe sazonal apresenta taxas de morbidade e mortalidade que variam anualmente, pois dependem do subtipo circulante e da imunidade da população contra aquele vírus. Estima-se que, anualmente, 10% da população apresente pelo menos um episódio de gripe associado ao vírus sazonal e que, mundialmente, 3 a 5 milhões de indivíduos tenham sintomas graves.

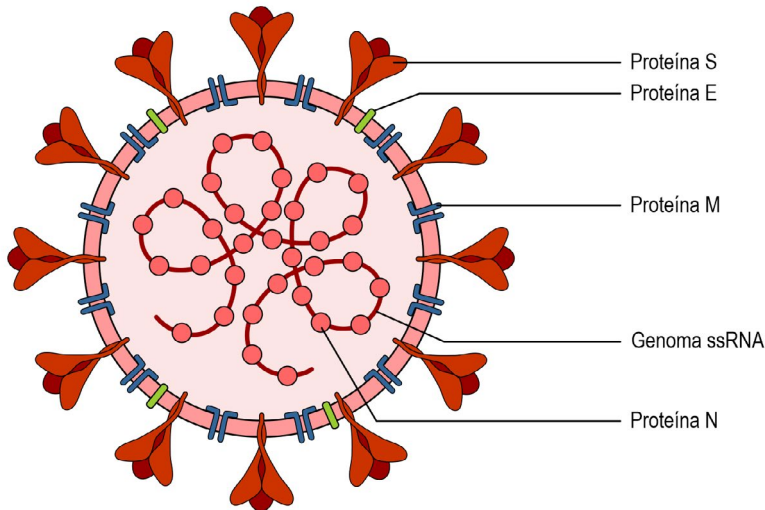
O perfil sazonal dos vírus da influenza A é influenciado por fatores populacionais (imunidade de rebanho, interações sociais, comportamentos e culturas), virais (contínuo processo de geração e seleção de novas linhagens) e ecológicos/ambientais. O padrão de sazonalidade para os vírus da influenza é anual, com maior atividade nos meses de inverno em regiões temperadas. Nas regiões tropicais e subtropicais, devido às condições climáticas, os padrões de sazonalidade não são evidentes, uma vez que não têm estações demarcadas.

Devido à dimensão territorial do Brasil, que se apresenta em áreas temperadas, subtropicais e equatoriais, é possível identificar distintos padrões de sazonalidade dos vírus da influenza. Os estados da região Sul do Brasil têm um padrão similar ao das regiões de clima temperado, com nível de circulação viral bem definido, ao passo que a maioria dos estados brasileiros não tem sazonalidade anual.

Coronavírus

Os coronavírus pertencem à ordem *Nidovirales*, subordem *Cornidovirineae*, família *Coronaviridae*, e atualmente são classificados em duas subfamílias, quatro gêneros, *Alphacoronavirus*, *Betacoronavirus*, *Gammacoronavirus*, *Deltacoronavirus*, 26 subgêneros e 46 espécies. Apesar de diversas espécies de coronavírus já terem sido relatadas, apenas sete foram descritas infectando humanos (HCoVs): HCoV-229E, HCoV-NL63, HCoV-OC43, HCoV-HKU1, Mers-CoV (síndrome respiratória do Oriente Médio), Sars-CoV-1 (SRAG) e o novo Sars-CoV-2, responsável pela pandemia de covid-19 (doença do coronavírus, do inglês *coronavirus disease* 2019), que surgiu no fim de 2019 na cidade de Wuhan, China.

As partículas virais, de 100 a 160 nm de diâmetro, são envelopadas e pleomórficas, com um envelope viral constituído pelas glicoproteínas *spike* ou S (longa, presente em todos os coronavírus) e HE (curtas, presentes em alguns coronavírus), M (transmembrana) e a proteína E (envelope), presente em menor quantidade (Figura 2).

Figura 2 – Representação esquemática da partícula viral do coronavírus

Quanto ao genoma, o coronavírus é um vírus RNA, de fita simples e polaridade positiva, não segmentado, com cerca de 27 a 32 kb, que se associa com a fosfoproteína N para formar um nucleocapsídeo helicoidal. Na região 5'-terminal está localizado o gene da polimerase, que compreende dois terços do genoma e consiste em duas sequências de leitura aberta (ORF, *open reading frames*) sobrepostas. Essas ORFs são traduzidas em uma poliproteína precursora, que é posteriormente clivada em 16 proteínas não estruturais envolvidas na transcrição e replicação do genoma. A região 3'-terminal codifica as proteínas estruturais, incluindo as glicoproteínas do envelope (S), envelope (E), membrana (M) e nucleocapsídeo (N). Além dos genes que codificam proteínas estruturais, existem genes acessórios que são específicos da espécie e dispensáveis para replicação do vírus. Independentemente da espécie viral, a ordem dos genes no genoma viral não varia.

Esses vírus causam infecções agudas e persistentes entre humanos, outros mamíferos e aves. O primeiro coronavírus foi descrito em 1937 e causava doença respiratória em galinhas. Em 1965, foi isolado e descrito o primeiro coronavírus capaz de infectar humanos, denominado B814. Esse foi isolado a partir da amostra clínica de uma criança com quadro de resfriado.

Formas de transmissão

Os coronavírus humanos têm capacidade de se replicar em células do sistema respiratório e gastrointestinal. As principais formas de transmissão são: contato direto com o indivíduo infectado; contato indireto com superfícies e objetos contaminados; através de pequenas gotículas respiratórias eliminadas pelo indivíduo infectado ao tossir, espirrar, falar e cantar; e por meio de gotículas respiratórias (aerossóis) que contêm o vírus e que podem permanecer suspensas no ar.

Ácidos nucleicos derivados de Mers-CoV, Sars-CoV-1 e Sars-CoV-2 foram observados em amostras de fezes, indicando risco de transmissão fecal-oral ou fecal-respiratória. No entanto, ainda não há evidências suficientes de transmissão desses vírus pelo contato com alimentos contaminados por fezes. Recentemente também foram relatados casos de transmissão intrauterina de Sars-CoV-2.

Procedimentos que promovam a aerossolização de gotículas respiratórias infecciosas ou de outros materiais potencialmente infecciosos (como fezes ou urina) em hospitais ou em outros locais podem amplificar a transmissão.

Patogenia e manifestações clínicas

A infecção por coronavírus pode ser assintomática, um quadro de resfriado comum ou uma doença respiratória aguda, com choque séptico, falência de múltiplos órgãos e óbito. O tempo de incubação dos coronavírus varia de dois a cinco dias. Após o período de incubação, os indivíduos podem apresentar dor no corpo e cefaleia, febre e manifestações respiratórias, como tosse e dispneia, que podem aparecer em alguns dias a semanas após os sintomas iniciais. Pneumonia atípica e rápida deterioração podem ocorrer em 20 a 30% dos casos. O quadro clínico dos indivíduos infectados por Mers ou Sars é bem similar, porém, no caso de Sars, há maior probabilidade de casos mais graves de insuficiência respiratória e necessidade do uso de respiradores artificiais. Nos pacientes infectados pelo Sars-CoV-2 tem sido também relatada a perda de paladar ou do olfato, além de náusea ou vômito e diarreia.

Diagnóstico

As infecções por coronavírus em animais e humanos podem ser detectadas por isolamento viral em cultivo celular, testes sorológicos e moleculares. Os ensaios de cultivo celular não são feitos de forma rotineira devido aos riscos e custos associados.

O diagnóstico laboratorial mais empregado é a técnica de PCR em tempo real ou qPCR em amostras de secreção respiratória, tal como secreção de nasofaringe ou orofaringe, escarro e lavado broncoalveolar. É recomendada a coleta simultânea de amostras do trato respiratório superior e inferior. Assim como outros vírus respiratórios, os coronavírus têm maior carga viral no início da doença, fase de maior detecção pelos testes moleculares. Segundo recomendações da OMS, a confirmação da infecção por Sars ou Mers-CoV exige positividade para, ao menos, duas diferentes regiões genômicas do vírus.

Reação em cadeia da polimerase que consiste em uma variação da técnica de PCR convencional, na qual a detecção e a quantificação do material genético ocorrem simultaneamente.

Testes sorológicos que detectam IgM ou IgG, tais como Elisa (do inglês, *enzyme-linked immunosorbent assay*), imunofluorescência e *western blot*, podem ser úteis como ferramenta diagnóstica complementar. Esses testes podem indicar contato prévio com o coronavírus, porém têm alta probabilidade de reação cruzada. O uso dessas metodologias requer interpretações dos resultados e compreensão de suas potencialidades e limitações. O emprego de ensaios de neutralização viral pode ser útil para confirmar os resultados sorológicos, visto que o teste de neutralização é o mais específico disponível.

Epidemiologia

Os vírus HCoV-NL63, HCoV-229E, HCoV-OC43 e HCoV-HKU1 circulam sazonalmente na população humana, geralmente provocando resfriados comuns. No entanto, podem causar infecções graves do trato respiratório, especialmente em idosos e crianças.

Sars-CoV e Mers-CoV têm origem zoonótica, ou seja, seus reservatórios são animais. Ocasionalmente infectam a população humana suscetível,

possivelmente por meio de uma espécie hospedeira intermediária, e causam SRAG, podendo levar ao óbito. O Sars-CoV-2 é cerca de 50% geneticamente idêntico ao Mers-CoV e cerca de 79% idêntico ao Sars-CoV-1. Desses vírus com origem zoonótica, apenas o Sars-CoV-2 foi identificado no Brasil.

Em 2002, a emergência do Sars-CoV-1, em Cantão, na China, causou mais de 8.400 casos, com aproximadamente novecentos óbitos até agosto de 2003, quando medidas agressivas de intervenção na saúde pública conseguiram conter a dispersão viral. O número de profissionais da saúde com sintomas de Sars notificados totalizou 1.007 casos. A taxa de letalidade por Sars-CoV aumenta com a idade: em menores de 24 anos, é encontrada uma taxa de letalidade de menos de 1%, dos 25 aos 44 anos é de 6% e para maiores de 50 anos é de 50%.

A síndrome respiratória do Oriente Médio (Mers) é uma doença respiratória viral, relatada pela primeira vez na Arábia Saudita em 2012, e desde então se espalhou para vários outros países. A maioria das pessoas infectadas com Mers-CoV desenvolveu doença respiratória grave, com febre, tosse, falta de ar, e muitos evoluíram para o óbito. De acordo com a OMS, foram confirmados laboratorialmente 2.494 casos e 858 mortes associadas ao Mers-CoV desde setembro de 2012.

Em dezembro de 2019, uma série de casos de um novo vírus causando infecções respiratórias em humanos foi observada em pacientes após terem visitado um mercado local na cidade de Wuhan, na China. O novo vírus, inicialmente, foi chamado de novo coronavírus 2019 (2019-nCoV), e posteriormente nomeado Sars-CoV-2 pelo Comitê Internacional de Taxonomia Viral (ICTV) e se dispersou em todo o mundo. Em 30 de janeiro de 2020, a OMS declarou que o surto do novo coronavírus constituiu uma emergência de saúde pública de importância internacional – o mais alto nível de alerta da organização. Em 11 de março de 2020, a forma de manifestação da covid-19 foi caracterizada pela OMS como pandemia, sendo uma das maiores já observadas na história. Desde o início da pandemia, até o fim de 2020, 79 milhões de casos foram notificados e mais de 1,7 milhão de mortes foram registradas no mundo. No fim de 2021, havia mais de 278 milhões de casos e aproximadamente 5,4 milhões de mortes globalmente desde a detecção

do vírus. No Brasil, até abril de 2023, mais de 37 milhões de casos e mais de 700 mil óbitos foram documentados. Até o final de 2021, o Brasil havia registrado mais de 22 milhões de casos e aproximadamente 615 mil óbitos. Os morcegos e pangolins foram identificados como reservatórios de Sars-CoV-2.

Vírus Sincicial Respiratório (VSR)

A primeira descrição do VSR foi feita por Morris em 1956, associado ao relato de um surto de resfriados em chimpanzés. Inicialmente recebeu o nome de agente da coriza do chimpanzé. Estudos posteriores identificaram a importância epidemiológica do VSR entre os humanos.

O vírus pertence à ordem *Mononegavirales*, família *Pneumoviridae*, gênero *Metapneumovírus*, espécie *human metapneumovirus*. Seu material genético é composto de um RNA de cadeia única com 10 genes que codificam 11 proteínas, sendo 9 proteínas estruturais (N, P, L, M, F, G, SH, M2-1 e M2-2) e duas não estruturais (NS-1 e NS-2). O gene M2 é responsável pela síntese de duas proteínas distintas, M2-1 e M2-2. O VSR divide-se em subgrupos antigênicos, A e B, que cocirculam. Em algumas descrições, aponta-se uma ciclicidade da alternância entre o predomínio dos subgrupos a cada dois anos, ou seja, ao existir predomínio do subgrupo A por esse período, haverá uma alteração, e, no biênio seguinte, será encontrado um predomínio do subgrupo B.

Formas de transmissão

O VSR pode ser transmitido por inalação de gotículas e, também, por contato direto ou indireto por meio de fômites. Em climas temperados, apresenta um claro padrão sazonal de incidência principalmente durante o inverno, embora possa se comportar de forma diferente nos locais onde é registrado.

Patogenia e manifestações clínicas

O vírus penetra no corpo humano através das mucosas dos olhos, nariz, boca, atingindo o trato respiratório, onde iniciará o processo de multiplicação celular nas vias aéreas superiores. Desloca-se rapidamente para as vias aéreas inferiores, atingindo os bronquíolos e replicando-se de maneira mais eficiente, causando um processo inflamatório com sintomatologia caracterizada pela descamação do epitélio da nasofaringe, edema e produção exacerbada de muco. As manifestações clínicas observadas variam de infecção respiratória aguda nas vias aéreas superiores, quadros de rinite, sinusite, faringite e otite média aguda, até infecções de vias respiratórias inferiores, principalmente bronquiolite e até pneumonia.

As infecções respiratórias agudas graves ocorrem em grande parte dos lactentes com infecção primária pelo VSR, sendo que cerca de 1-3% necessitará de hospitalização. A doença é geralmente sintomática em jovens e crianças, mas a sua intensidade diminui progressivamente com reinfecções. O VSR é a principal causa de hospitalização por infecção das vias aéreas entre crianças até 5 anos de idade em todo o mundo.

Diagnóstico

O diagnóstico normalmente é realizado pela análise clínica e baseado nos sinais e sintomas. No entanto, em situações específicas a detecção viral é importante, como em pessoas imunocomprometidas e em quadros clínicos graves e atípicos, auxiliando no manejo clínico, tratamento medicamentoso adequado e na vigilância das viroses respiratórias. O diagnóstico específico de VSR pode ser realizado por métodos moleculares como RT-PCR e RT-PCR em tempo real, detecção de antígenos virais por imunofluorescência, isolamento em cultura de células e detecção por ensaios imunoenzimáticos.

Epidemiologia

A sazonalidade do VSR não é bem definida. Em países de clima temperado, com invernos mais rigorosos, a baixa temperatura pode aumentar o contato entre as pessoas em ambientes fechados. Quanto à incidência e

à prevalência do VSR no Brasil e no mundo, elas são altamente variáveis, embora o vírus seja o principal agente infeccioso do trato respiratório inferior em crianças de baixa faixa etária, com pico de incidência entre o segundo e o terceiro mês de idade. Dados obtidos de um estudo publicado em 2016 demonstram que 5% das amostras de secreção nasofaríngea coletadas durante o período de 2005 a 2012 em todo território nacional foram positivas para o VSR.

No continente europeu, padrões bienais de sazonalidade com duração de quatro a seis meses são observados, com a alternância entre uma onda fraca e uma onda mais grave. A sazonalidade em regiões tropicais e equatoriais parece ser menos marcada. Na Ásia, a circulação é difusa ao longo do ano, com mais de um pico anual registrado, geralmente associados aos períodos de maior pluviosidade. Em outras regiões, como América Central, o vírus circula durante o ano todo sem predomínio claramente definido.

No Brasil, a sazonalidade varia de acordo com a região, devido às amplas extensões territoriais, diferenças climáticas e socioambientais entre elas. No entanto, há predominância de circulação do vírus no inverno, com máxima de casos em julho. No Nordeste, por exemplo, é descrita na estação chuvosa no primeiro semestre, enquanto na região Sul evidencia-se no inverno de abril a agosto, e no Sudeste, por sua vez, a maior incidência é no outono, entre março e abril. Na região Nordeste há uma maior intensidade de casos em maio e na Região Centro-Oeste, em abril.

Outros Vírus Respiratórios: rinovírus, parainfluenza e metapneumovírus

As doenças do trato respiratório também são causadas por outros agentes virais como os rinovírus, parainfluenza e metapneumovírus que podem estar associados a resfriados comuns, faringite, laringite, traqueobronquite, bronquiolite, gripe e pneumonia, acometendo principalmente crianças e idosos.

Rinovírus

Os rinovírus humanos (HRVs) pertencem ao gênero *Enterovirus* da família *Picornaviridae*. Esses são os principais responsáveis pelo resfriado comum que acomete o trato respiratório superior. Esses vírus também estão relacionados com quadros clínicos respiratórios graves como pneumonias, sintomas intensos de asma e da doença pulmonar obstrutiva crônica. Estima-se que o rinovírus seja responsável por aproximadamente 25-50% das infecções respiratórias em indivíduos com um quadro clínico semelhante ao da gripe.

Os HRVs são vírus pequenos, com um diâmetro de 25-30 nm, que têm capsídeo icosaédrico não envelopado, composto de sessenta cópias de cada uma das quatro proteínas (VP1-VP4). O genoma viral é composto de RNA de fita simples de polaridade positiva.

Os rinovírus são classificados em sorotipos conforme suas características antigênicas. Mais de cem sorotipos já foram descritos, limitando o desenvolvimento de uma vacina, uma vez que a infecção prévia não confere imunidade aos demais sorotipos. Um novo sorotipo é determinado pela ausência de neutralização com anticorpos de sorotipos descritos.

A transmissão acontece pelo contato direto ou indireto com secreções respiratórias contaminadas. O período de incubação é de 8 a 12 horas, e o sítio primário de replicação é a nasofaringe, devido ao fato de a temperatura ideal de replicação viral ser entre 33 °C e 35 °C.

Os sintomas aparecem logo após o primeiro ciclo de replicação viral e estão presentes em 70-90% das infecções, sendo o resfriado a síndrome clínica característica. A infecção da mucosa nasal resulta em vasodilatação e aumento da permeabilidade vascular, responsáveis pela coriza e obstrução. Manifestações respiratórias como tosse e dor de garganta também são observadas e podem estar presentes em associação com sintomas gerais como febre, cefaleia e mialgia. As grandes variações clínicas podem estar associadas aos mediadores inflamatórios, que são liberados durante a inflamação.

Em regiões de clima temperado, o padrão sazonal das infecções é bem conhecido: presentes em todos os meses do ano, com circulação aumen-

tada no outono e primavera. No Brasil, o padrão sazonal difere: há casos praticamente no ano todo, com um aumento nos meses de inverno. Os rinovírus são associados a infecções respiratórias agudas do trato respiratório superior, mas, com a utilização de técnicas moleculares de diagnóstico, foi possível demonstrar o acometimento do trato respiratório inferior e complicações como otite média em crianças e sinusite em adultos. Ressalta-se ainda que 12-20% dos indivíduos são assintomáticos, contribuindo na disseminação da doença.

Parainfluenza (conhecido atualmente como respirovírus)

Os vírus parainfluenza, atualmente denominados como respirovírus, pertencentes à família *Paramyxoviridae*, subdividem-se em quatro subfamílias, dentre as quais duas delas têm grande importância humana: *Orthoparamyxovirinae* e *Rubulavirinae*. Na primeira subfamília, destacamos o gênero *Respirovirus*, no qual está incluído *respirovírus* humano 1 e *respirovírus* humano 3. Na segunda subfamília, destacamos o gênero *Orthorubulavirus*, em que está incluído *orthorubulavírus* humano 2 e *orthorubulavírus* humano 4.

São vírus pleomórficos e envelopados, que apresentam um genoma RNA de fita simples e polaridade negativa, de 15 a 19 kb de extensão. As seguintes proteínas são comuns a todos os respirovírus: HN (hemaglutinina neuraminidase), F (proteína de fusão), M (proteína de matriz), N (proteína ligadora de RNA), P (fosfoproteína), L (grande polimerase), além de outras proteínas acessórias, como V (proteína rica em cisteína), e SH (proteína integral de membrana).

A transmissão do vírus é direta pelo contato das mãos com a mucosa, principalmente ocular e nasal, e por gotículas de aerossóis disseminadas durante tosses e espirros que podem ser inaladas ou contaminar superfícies. O vírus pode sobreviver durante períodos mais longos, por horas, em superfícies não porosas ou lisas, mais do que em superfícies porosas.

A infecção das células epiteliais do trato respiratório pode ocasionar rinites, faringites, laringites, traqueobronquiolites, bronquiolites e pneu-

monias. O início da infecção envolve as membranas nasais e da garganta, podendo causar a obstrução dos seios paranasais e tuba auditiva, levando a sinusite e otite média. Em infecções extensas por respirovírus, laringe e a traqueia superior podem ser envolvidas causando laringotraqueobronquiolite, ou pode se estender para a traqueia inferior e os brônquios, com acúmulo de muco, resultando em atelectasia e pneumonia. Quando o HPIV-3 produz doença severa, há infecção nas pequenas passagens de ar, causando bronquiolites, bronquites e broncopneumonias.

Condição caracterizada pelo colapso dos alvéolos pulmonares, que pode afetar todo o pulmão ou apenas uma parte do órgão.

Todos os respirovírus podem causar bronquiolite. Os sintomas incluem principalmente febre, tosse, rinorreia, chiado expiratório e taquipneia. A infecção normalmente é observada no primeiro ano de vida. Os respirovírus são responsáveis por 10% das pneumonias virais, sendo o segundo mais importante agente causador de bronquiolite, superado apenas pelo VRS humano. Os quadros de pneumonia estão mais relacionados aos respirovírus humanos 1 e 3.

O diagnóstico laboratorial pode ser realizado em amostras de secreção respiratória e a maior taxa de detecção é observada empregando amostras de *swab* nasal em conjunto com aspirado de nasofaringe. A pesquisa do vírus pode ser realizada por RT-PCR e isolamento em culturas de células. Em laboratórios de rotina, a pesquisa do vírus por imunofluorescência é a técnica mais empregada, devido à boa sensibilidade, alta especificidade e reduzido gasto de tempo.

O tratamento das infecções ocasionadas pelos respirovírus é sintomático. Em casos graves, como em pacientes transplantados, indica-se o uso de corticoides, com o objetivo de diminuir a frequência de hospitalização e intubação de pacientes. Não há um tratamento antiviral específico de uso rotineiro nem vacinas aprovadas para utilização.

Os respirovírus e ortorubulavírus têm distribuição mundial, causando infecções respiratórias agudas no trato respiratório de humanos. São considerados importantes patógenos respiratórios durante a primeira e a segunda infância, causando desde infecções inaparentes até quadros graves, como pneumonias e bronquiolites. Em adultos a prevalência é

relativamente baixa. No Brasil, os respirovírus do tipo 3 foram os mais detectados, seguido pelo tipo 1.

Metapneumovírus humano

O metapneumovírus humano foi identificado em 2001 e pertence à Família *Pneumoviridae*, gênero *Metapneumovirus*. É um vírus envelopado e pleomórfico, com capsídeo helicoidal com 150-600 nm. Seu genoma é composto de um RNA de fita simples de polaridade negativa. O metapneumovírus humano é formado pelos genótipos A (subtipos A1 e A2) e B (subtipos B1 e B2) e tem distribuição mundial. Os casos de hospitalização são comuns em crianças menores de 1 ano de idade e a maioria das crianças com até 5 anos já entrou em contato com o vírus.

O único meio de transmissão do metapneumovírus humano conhecido até o momento é o contato direto com indivíduo infectado através de tosse ou espirro. Entre os sinais e sintomas da infecção estão incluídos diversos problemas respiratórios como tosse, rinite, falta de ar e febre, acompanhados de bronquiolite e pneumonia. Indivíduos imunocomprometidos, crianças até 2 anos e idosos apresentam um quadro clínico mais severo.

Devido a sua recente descoberta e à escassez de estudos na literatura, pouco se sabe sobre o metapneumovírus humano. Além disso, esse vírus não se replica muito bem em diversos cultivos celulares, com exceção da linhagem celular derivada de rim de macaco verde africano (LLC-MK2), onde tem a capacidade de se replicar lentamente na presença de tripsina, com efeito citopático observado somente após um período de 10 a 14 dias. As melhores metodologias para detecção do vírus são as que empregam ferramentas moleculares. As amostras utilizadas em biologia molecular são de lavado ou aspirado nasofaríngeo; em imunocomprometidos, recomenda-se o lavado broncoalveolar. Também podem ser utilizados testes de imunofluorescência indireta e ensaios imunoenzimáticos.

A maioria das infecções acontece em crianças menores de 5 anos, mas as menores de 2 anos apresentam maior probabilidade de ter quadros mais graves. O metapneumovírus humano está presente em todo o mundo, sendo

responsável por 5-10% dos casos de hospitalizações de crianças por infecções respiratórias. Estudos de soroprevalência indicam soropositividade em 100% dos indivíduos maiores de 10 anos.

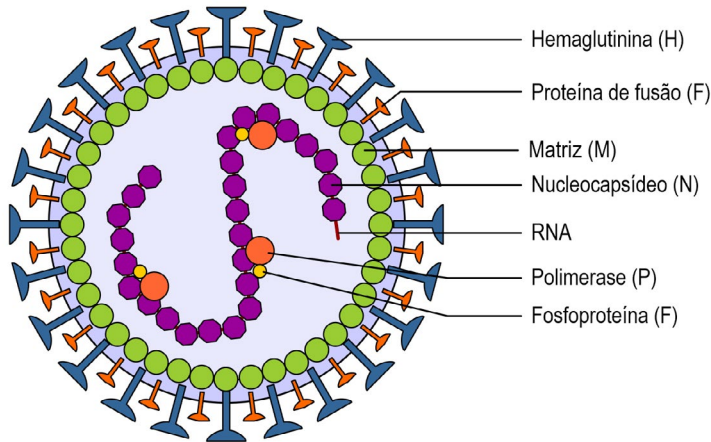
Caso haja algum agravamento e o indivíduo necessite ser hospitalizado, é necessário fornecer oxigenação suplementar e hidratação intravenosa. Como medicação, pode ser fornecida ribavirina e a administração de imunoglobulina humana específica para amenizar os sintomas.

Vírus Causadores de Exantema e Parotidite Transmitidos por Via Respiratória

Sarampo, rubéola, caxumba e varicela, apresentadas nesta seção, não são definidas como viroses respiratórias, mas são transmitidas diretamente por gotículas de saliva e das secreções respiratórias infectadas, considerando, no entanto, que a transmissão viral, no caso da varicela, também pode ocorrer pelo contato direto com material das lesões cutâneas.

Sarampo

O sarampo é uma doença aguda grave, altamente contagiosa que afeta principalmente crianças menores de 5 anos de idade. O vírus do sarampo pertence à família *Paramyxoviridae*, subfamília *Paramyxovirinae*, gênero *Morbillivirus*. As partículas virais apresentam morfologia pleomórfica, envelope lipídico derivado da membrana plasmática e medem 100-300 nm (Figura 3). O genoma viral consiste em RNA de fita simples, polaridade negativa, linear, não segmentado com cerca de 16 mil nucleotídeos, codificando seis proteínas estruturais – nucleoproteína (N), fosfoproteína (P), proteína da matriz (M), hemaglutinina (H), proteína de fusão (F) e polimerase (L) – e duas proteínas (C e V) não estruturais adicionais traduzidas pelo gene P.

Figura 3 – Representação esquemática da partícula viral do vírus do sarampo

Formas de transmissão

O vírus do sarampo é altamente contagioso, e a transmissão acontece pelo contato direto com gotículas de saliva e de secreções nasofaríngeas contendo partículas virais de indivíduos infectados. O período de contágio é de quatro a seis dias antes do surgimento do exantema e estende-se até quatro dias depois; a fase de maior contágio acontece entre o período de dois dias antes e após o início do exantema. O sarampo é uma doença humana e não há relato de ocorrência em animais.

Patogenia e manifestações clínicas

A infecção se inicia com a invasão das células do trato respiratório e ocasionalmente as células da conjuntiva pelo vírus do sarampo que, após replicação, dissemina-se para os linfonodos regionais. Em sequência, inicia-se a viremia primária com o acometimento de células monocítico-fagocitárias presentes no fígado, medula óssea, baço, entre outros órgãos linfoides. Após a replicação nesses tecidos, acontece uma segunda viremia com disseminação viral para o pulmão, tecidos nervoso, epitelial e do trato gastrointestinal.

Após um período de incubação, que varia de 10 a 14 dias, surge o período prodrômico, no qual o paciente tem febre associada com mani-

festações inespecíficas caracterizadas por tosse, coriza, fotofobia e diarreia, semelhante a uma virose respiratória como a influenza.

Após dois a quatro dias deste período, pode surgir o sinal de Koplik, que são pequenos pontos brancos amarelados com halo eritematoso, na mucosa bucal, na altura do terceiro molar, antecedendo ao exantema. No período exantemático, com duração de três a cinco dias, observa-se a intensificação das manifestações clínicas, podendo levar a superinfecção viral ou bacteriana, com prostração significativa e surgimento do exantema característico do sarampo: lesão na região retroauricular e face, maculopapular, de cor avermelhada, com distribuição em sentido cefalocaudal, que se estende pelo tronco e extremidades, persistindo por cerca de cinco a seis dias.

No último período da doença, que é a fase convalescente ou de descamação furfurácea, é verificada a diminuição das manifestações clínicas, com declínio da febre. O exantema se torna escurecido e, em alguns casos, pode surgir descamação fina, lembrando farinha, por esse motivo, o nome de furfurácea. A tosse, que pode ser produtiva, permanece por um período mais longo, e o paciente se recupera, na ausência de complicações associadas à infecção secundária e desnutrição.

Há que se registrar que muitas das complicações, como infecções respiratórias, doenças diarreicas, doenças neurológicas e otites, assim como os óbitos associados com sarampo, são decorrentes dos danos causados pelo vírus ao sistema imunológico. Estudos comprovam que o vírus do sarampo tem a ação de diminuir a memória imunológica adquirida previamente pelo paciente, fato que aumenta, consequentemente, o risco de infecções secundárias. Essa capacidade do vírus de prejudicar funcionalmente as células imunológicas – principalmente em crianças desnutridas e em imunocomprometidos – aumenta sua letalidade. Entre as infecções secundárias mais frequentes, destacam-se as virais, como a pneumonia intersticial, encefalite, hepatite e miocardite. Em relação às infecções bacterianas, destacam-se as pneumonias por bactérias gram-positivas, além da reativação da tuberculose pela diminuição da memória imunológica. Outras complicações podem ser observadas, como panencefalite subaguda esclerosante e manifestações hemorrágicas. É preciso registrar que o quadro, em pacientes imunodefi-

cientes, pode evoluir para pneumonia de células gigantes sem exantema e que a letalidade neste grupo pode ultrapassar a taxa de 50%.

Diagnóstico

Considerada uma doença de notificação compulsória em 24 horas, com base no diagnóstico clínico e dados epidemiológicos, a confirmação laboratorial é feita por meio de testes sorológicos com pesquisa de anticorpos antissarampo das classes IgM e IgG. Testes de imunofluorescência, hemaglutinação e o ensaio imunoenzimático, este último considerado o teste de escolha diante de um caso suspeito de sarampo, encontram-se disponíveis na rede de laboratórios de saúde pública no Brasil. Em adição, é possível realizar a pesquisa direta do antígeno em urina e secreção nasofaríngea pelo teste de imunofluorescência, o isolamento viral da secreção nasofaríngea em cultura de célula, assim como a pesquisa do genoma viral nesse fluido por métodos moleculares como a RT-PCR em tempo real, além da caracterização genômica do vírus, um procedimento laboratorial estratégico no campo da epidemiologia molecular.

Epidemiologia

O sarampo é um agravo de distribuição global, com variação sazonal, e acomete indivíduos de todas as idades. Apresenta características endêmicas nos grandes centros urbanos, podendo levar epidemias a cada dois ou quatro anos, dependendo de fatores como baixa cobertura vacinal, circulação do vírus e a relação entre o grau de imunidade e a suscetibilidade da população. Após, perder em 2019, o certificado de eliminação do sarampo, entregue ao Brasil pela Organização Pan-Americana da Saúde (Opas) em 2016, o número de casos da doença aumentou durante o período de 2018 a 2023, com a confirmação de mais de 39 mil casos em todas as unidades federativas.

Rubéola

O vírus da rubéola, pertencente à família *Matonaviridae*, gênero *Rubivirus*, apresenta uma partícula envelopada de 40 nm a 70 nm, com capsídeo icosaédrico e genoma RNA de cadeia simples de sentido positivo.

O vírus tem três proteínas estruturais: a proteína C de capsídeo e as glicoproteínas E1 e E2, que estão no envelope e são responsáveis pela ligação viral na célula do hospedeiro.

Formas de transmissão

A rubéola, também conhecida como sarampo alemão, é uma doença infectocontagiosa exantemática aguda de transmissão respiratória, que acomete principalmente crianças, mas também pode ocorrer em adultos. A transmissão da rubéola se dá por contato direto com indivíduos infectados, através de gotículas de secreções da nasofaringe expelidas ao tossir, espirrar ou falar, o que a faz ser altamente contagiosa. O período de transmissibilidade é de cinco a sete dias antes e depois do início do exantema, que é uma erupção cutânea. A maior transmissibilidade acontece dois dias antes e depois do início do exantema. A transmissão indireta é menos frequente e pode ocorrer por meio de contato com objetos contaminados com secreções nasofaríngeas, sangue e urina.

Na rubéola congênita, a mãe transmite a doença para o feto por via placentária. Crianças portadoras de rubéola congênita podem eliminar o vírus pela urina e secreções nasofaríngeas, principalmente nos primeiros meses de vida e até depois de completar um ano.

Patogenia e manifestações clínicas

Após infecção das células do trato respiratório superior, ocorre replicação viral na nasofaringe e nos linfonodos regionais com subsequente disseminação viral para fígado, baço e pele. O início da doença se caracteriza pelo surgimento de febre baixa e linfoadenopatia retroauricular e/ou occipital e/ou cervical, podendo perdurar por um período de cinco a dez dias a algumas semanas.

O exantema geralmente manifesta-se após esse quadro clínico. O exantema maculopapular puntiforme difuso é observado inicialmente na face, pescoço e couro cabeludo, e em seguida espalha-se para o tronco e os membros. Frequentemente crianças são assintomáticas, e adolescentes e adultos podem apresentar período de incubação com febre baixa, cefaleia, coriza, tosse, conjuntivite e dores generalizadas.

Embora a doença seja de evolução benigna, com manifestações discretas ou assintomáticas, a infecção no início da gravidez está associada com aborto espontâneo, morte fetal ou natimorto, além de más-formações congênitas conhecidas como síndrome da rubéola congênita (SRC), cuja gravidade está relacionada com o acometimento do feto nas fases mais precoces da gestação, quando a defesa fetal ainda é imatura, e, por isso, ocorre necrose tecidual sem resposta inflamatória.

Diagnóstico

O diagnóstico laboratorial é realizado por meio de testes sorológicos, com a pesquisa de anticorpos IgM no sangue a partir do início da doença até o 28º dia após o exantema e detecção de anticorpos IgG após o desaparecimento do exantema, entre dez e vinte dias, sendo detectáveis por toda a vida. O vírus da rubéola pode ser identificado, pela RT-PCR, nas secreções orofaríngeas e nasofaríngeas, líquor, sangue e em tecidos, em casos fatais, geralmente na SRC. O objetivo da identificação viral é conhecer o genótipo do vírus, diferenciar um caso autóctone de um caso importado, bem como distinguir o vírus selvagem do vacinal. Em relação à SRC, a detecção viral pode ser realizada por meio de isolamento ou análise molecular de material biológico como líquor, secreção respiratória, fezes e urina. Ainda na fase intrauterina, o diagnóstico pode ser realizado por análise do líquido amniótico ou biópsia de vilosidades coriônicas.

Epidemiologia

A rubéola é uma doença de distribuição universal, de ocorrência sazonal, com aumento do número de casos no fim do inverno e início da primavera, mas a ocorrência de epidemias cíclicas depende da existência de indivíduos suscetíveis. A relevância epidemiológica está vinculada à síndrome da rubéola congênita, que favorece o aparecimento de más-formações congênitas, como cardiopatias, catarata e surdez, além de risco de abortos e natimortos.

Desde 2011, a OMS tem intensificado os esforços para erradicar a rubéola imunizando crianças, estratégia que resultou no fim da transmissão endêmica em 168 dos 194 países que introduziram a vacina contra

rubéola. No entanto, embora em 2015 o continente americano tenha recebido a declaração de eliminação da circulação do vírus da rubéola e da SRC e os últimos casos no Brasil datem do fim da década de 2000, a Opas tem emitido alerta epidemiológico quanto à ocorrência de casos na Argentina e no Chile. A baixa cobertura vacinal contra a rubéola observada nos últimos anos, assim como contra o sarampo, por exemplo, com taxas inferiores a 80% de vacinados, aponta para o risco de retorno dessas doenças, consequência, entre outros fatores, do movimento antivacina e da falsa impressão de que a doença não mais existe.

Caxumba

A caxumba, também conhecida como parotidite epidêmica ou papeira, é uma doença causada pelo vírus do gênero *Orthorubulavirus*, família *Paramyxoviridae*, subfamília *Rubulavirinae.* Apresenta uma partícula de 100-300 nm, envelopada, de simetria helicoidal, com genoma RNA. O genoma RNA de fita simples de polaridade negativa tem 15,4 kb e codifica oito proteínas – a proteína hemaglutinina-neuraminidase (HN), proteína de fusão (F), proteína nucleocapsídeo (NP), fosfoproteína (P), proteína da matriz (M), proteína hidrofóbica (SH) e as duas proteínas L. A proteína P contém duas proteínas não estruturais, V e I. As proteínas F e HN parecem ser os determinantes mais importantes da imunidade. Embora apenas um sorotipo do vírus da caxumba seja conhecido, existem 13 genótipos (A a M), que foram determinados com base no sequenciamento da proteína SH, a proteína mais variável entre as linhagens de caxumba.

Formas de transmissão

A caxumba é altamente contagiosa, transmitida por via aérea, pela disseminação de secreções respiratórias, gotículas ou saliva de pessoas infectadas. O período de transmissibilidade ocorre de seis a sete dias antes das manifestações clínicas e após o aparecimento dos sintomas por até nove dias. O período de incubação é de aproximadamente duas semanas, podendo variar de 12 a 25 dias.

Patogenia e manifestações clínicas

Após infectar as células epiteliais do trato respiratório superior, o vírus da caxumba atinge os gânglios linfáticos regionais e se dissemina, por via sanguínea, até as glândulas parótidas, além de diversos órgãos, como os testículos, ovários e pâncreas. O vírus, que tem tropismo pelo sistema nervoso central, pode ocasionar quadros de meningite asséptica de curso benigno e outras complicações, como encefalite e pancreatite. A ocorrência de infecção durante o primeiro trimestre da gestação pode causar aborto espontâneo. Quanto às manifestações clínicas, inicialmente o quadro é tipicamente inespecífico, com cefaleia, mal-estar e febre, que evolui para dor em uma ou nas duas glândulas parótidas, ao mastigar e engolir, podendo acometer também as glândulas salivares. Posteriormente, surge edema, que pode atingir o pescoço, com exacerbação da dor com alimentos ácidos. Orquite, epididimite, pancreatite e meningoencefalite são algumas complicações que podem surgir, com mais frequência na população adulta.

Diagnóstico

O diagnóstico laboratorial da caxumba é realizado com base no aspecto clínico e epidemiológico. A sorologia pode ser feita utilizando o ensaio imunoenzimático e o teste de inibição da hemaglutinação. O exame da amilase sérica pode ser solicitado de forma complementar, porque a amilase fica aumentada em casos de parotidite. Para detecção viral, amostras de *swab* bucal, saliva e líquor podem ser submetidas ao isolamento em cultura de células e a técnicas moleculares, como RT-PCR seguido de sequenciamento e RT-PCR em tempo real.

Epidemiologia

A caxumba é uma doença de distribuição universal, de alta morbidade e baixa letalidade, que acomete mais comumente as crianças e populações não vacinadas. É uma doença endêmica que pode se apresentar como surtos mais frequentemente no inverno e na primavera. A caxumba é geralmente uma doença leve na infância, de evolução benigna, mas nos adultos acometidos pode evoluir com algumas complicações importantes. Desde o início

deste século, tem-se observado o ressurgimento da parotidite epidêmica no mundo, especialmente nos países sem cobertura vacinal adequada. Assim já foram observados grandes surtos nos Estados Unidos, Israel e em diversos países europeus, envolvendo principalmente adolescentes e adultos jovens. No Brasil, o número de casos reduziu em decorrência da vacinação implementada nos indivíduos entre 20 e 29 anos.

Varicela

A varicela, também conhecida como catapora, é uma infecção viral primária causada pelo vírus varicela-zóster do gênero *Varicellavirus*, família *Herpesviridae*, subfamília *Alphaherpesvirinae*, também conhecido como o vírus da catapora, vírus da varicela, vírus zóster e herpesvírus humano tipo 3 (HHV-3). A partícula viral mede em torno de 180-200 nm, com capsídeo icosaédrico e envelope. O DNA linear de fita dupla codifica dezenas de proteínas; mais de 35 são polipeptídeos estruturais, e dez fazem parte do envelope viral. A glicoproteína B é essencial para a infectividade, e a glicoproteína E é a mais abundante e altamente imunogênica.

Formas de transmissão

A varicela é altamente infecciosa, com transmissão de pessoa a pessoa, através de contato direto ou pela dispersão aérea de partículas virais e ocasionalmente por meio do contato com as lesões cutâneas. A transmissão indireta ocorre pelo contato com objetos infectados com secreções de vesículas e membranas mucosas de pacientes infectados. O período de transmissão pode variar de um a dois dias antes do surgimento das vesículas e manter-se até que as lesões alcancem a fase de crosta.

Patogenia e manifestações clínicas

Após replicação nas células epiteliais do trato respiratório, o vírus varicela-zóster se propaga para os linfonodos regionais e se dissemina, acontecendo então a viremia primária com subsequente replicação no fígado, baço, entre outros órgãos e tecidos. Em torno do 14º dia de infecção ocorre a viremia secundária, que coincide com surgimento do exantema vesicular. O exantema generalizado de distribuição centrípeta se apresenta

inicialmente como máculas, evoluindo em seguida para pápulas, vesículas, pústulas e crostas. Os vários estágios podem ser vistos simultaneamente.

O período de incubação pode variar de 10 a 21 dias após o contato, sendo relativamente curto em pacientes imunodeprimidos. A fase prodrômica se caracteriza por febre baixa, mal-estar, cefaleia, artralgia, mialgia, anorexia e vômito, podendo persistir por horas ou por até três dias. Na fase exantemática, as lesões surgem com as características exantemáticas da varicela e se disseminam pelo corpo, sendo observadas no couro cabeludo, na parte superior das axilas, nas membranas mucosas da boca e nas vias aéreas superiores. A intensidade do quadro clínico está diretamente associada à faixa etária. A doença é geralmente benigna e autolimitada em crianças, mas pode assumir forma mais grave em adolescentes e adultos. Podem surgir complicações, como infecção bacteriana secundária, pneumonia, encefalite, complicações hematológicas, síndrome de Reye, além da varicela congênita.

A infecção pelo vírus varicela-zóster pode resultar em duas formas clinicamente distintas de doença: a varicela, observada após infecção primária pelo vírus, e a herpes-zóster, observada após reativação do vírus da varicela, que permanece em latência em gânglios sensoriais.

Diagnóstico

O diagnóstico da doença é realizado por meio da avaliação dos aspectos clínicos, e o diagnóstico laboratorial é utilizado para o diagnóstico diferencial de casos graves. A PCR é reconhecida como o padrão-ouro para confirmação do diagnóstico da varicela em amostras de sangue. Entretanto, testes sorológicos, como ensaio imunoenzimático, aglutinação pelo látex e imunofluorescência indireta, também podem ser empregados.

Epidemiologia

A varicela é uma doença de distribuição globalizada, observada principalmente em regiões com ausência de um programa de vacinação, e acomete indivíduos de faixa etária variada de crianças em fase escolar. A epidemiologia da doença difere entre climas temperados e tropicais e é mais frequente no fim do inverno e início da primavera. Os motivos para

essa diferença são ainda pouco compreendidos, entretanto alguns fatores, como a sensibilidade do vírus varicela-zóster ao calor, a densidade populacional e o risco de exposição podem ser considerados.

De acordo com a OMS, a previsão é que 140 milhões de casos de varicela sejam notificados anualmente no mundo. Considerando que somente casos graves internados e óbitos são de notificação compulsória, assim como em outros países, não existe dado consistente sobre a incidência dessa virose no Brasil, embora se estime cerca de três milhões de casos anualmente. Segundo o Ministério da Saúde, durante o período de 2006 a 2016, o número de internações variou de 4.200 a 12.600 por ano no SUS, e as regiões com maior número de internações foram Sudeste e Nordeste.

Bibliografia
Consultada/Sugerida

Influenza

ALMEIDA, A.; CODEÇO, C. & LUZ, P. Seasonal dynamics of influenza in Brazil: the latitude effect. *BMC Infectious Diseases*, 18(1): 695, 2018.

AMANSA, R.; BERMEJO-MARTÍN, J. F. & LEONARDO, R. O. L. Immunopathogenesis of 2009 pandemic influenza. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 30, supl. 4: 18-24, 2012.

BEDFORD, T. *et al*. Global circulation patterns of seasonal influenza viruses vary with antigenic drift. *Nature*, 523(7.559): 217-220, 2015.

BORN, P. S. *Evolução dos Vírus Influenza A Sazonais no Brasil: mutações e rearranjos*, 2019. Tese de Doutorado, Rio de Janeiro: Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. *Guia para a Rede Laboratorial de Vigilância de Influenza no Brasil*. Disponível em: <chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia_laboratorial_influenza_vigilancia_influenza_brasil.pdf>. Acesso em: 20 mar. 2020. Brasília: Ministério da Saúde, 2016.

GOUNDER, A. P. & BOON, A. C. M. *Influenza Pathogenesis: the effect of host factors on severity of disease. The Journal of Immunology*, 202(2): 341-350, 2019.

NEWMANN, G.; NODA, T. & KAWAOKA, Y. Emergence and pandemic potential of swine-origin H1N1 influenza virus. *Nature*, 459(7.249): 931-939, 2009.

PAVIA, A. T. Viral infections of the lower respiratory tract: old viruses, new viruses, and the role of diagnosis. *Clinical Infectious Diseases*, 52(S4): S284-S289, 2011.

PETROVA, V. N. & RUSSELL, C. A. The evolution of seasonal influenza viruses. *Nature Reviews Microbiology*, 16: 47, 2017.

WANG, T. T. & PALESE, P. Emergence and Evolution of the 1918, 1957, 1968, and 2009 pandemic virus strains. *In*: WEBSTER, R. G. *et al.* (Eds.). *Textbook of Influenza: evolution and ecology of influenza viruses*. 2. ed. New Jersey: John Wiley & Sons, 2013.

WEBSTER, R. G. *et al.* (Eds.). *Textbook of Influenza: evolution and ecology of influenza viruses*. 2. ed. New Jersey: John Wiley & Sons, 2013.

Coronavírus

CENTERS POR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). Middle East Respiratory Syndrome (MERS). Page last reviewed: August 2, 2019. Disponível em: <www.cdc.gov/coronavirus/mers/index.html>. Acesso em: 9 jun. 2020.

CHAFEKAR, A. Fielding BC. MERS-CoV: understanding the latest human coronavirus threat. *Viruses*, 10(2): 93, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/v10020093>. Acesso em: 23 mar. 2023.

CUI, J.; LI, F. & SHI, Z. Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. *Nature Reviews. Microbiology*, 17: 181-192, 2019.

LUK, H. K. H. *et al.* Molecular epidemiology, evolution and phylogeny of SARS coronavirus. *Infection, Genetics and Evolution*, 71: 21-30, 2019.

MEYER, B.; DROSTEN, C. & MÜLLER, M. A. Serological assays for emerging coronaviruses: challenges and pitfalls. *Virus Research*, 194: 175-183, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2014.03.018>. Acesso em: 23 mar. 2023.

SU, S. *et al.* Epidemiology, genetic recombination, and pathogenesis of coronaviruses. *Trends in Microbiology*, 24(6): 490-502, 2016.

WIT, E. *et al.* SARS and MERS: recent insights into emerging coronaviruses. *Nature Reviews. Microbiology*, 14: 523-534, 2016.

Sars-CoV-2

ANDERSEN, K. G. *et al*. The proximal origin of SARS-CoV-2. *Nature Medicine*, 26: 450-452, 2020.

FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ (FIOCRUZ). MonitoraCovid-19 - Sistema de Informação para Monitoramento da Pandemia do Coronavírus (Covid-19). Rio de Janeiro: Ministério da Saúde, Laboratório de Informação em Saúde (LIS). Instituto de Comunicação e Informação Científica e Tecnológica em Saúde (ICICT)/Fiocruz, 2020. Disponível em: <https://bigdata-covid19.icict.fiocruz.br>. Acesso em: 23 mar. 2023.

CORMAN, V. M. *et al*. Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. *EuroSurveillance*, 25(3): pii=2000045, 2020.

GORBALENYA, A. E. *et al*. The species Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2. *Nature Microbiology*, 5: 536-544, 2020.

JIN, Y. *et al*. Virology, epidemiology, pathogenesis, and control of covid-19. *Viruses*, 12(4): 372, 2020.

LI, X. *et al*. Transmission dynamics and evolutionary history of 2019-nCoV. *Journal of Medical Virology*, 92: 501-511, 2020.

LOEFFELHOLZ, M. J. & TANG, Y. W. Laboratory diagnosis of emerging human coronavirus infections - the state of the art. *Emerging Microbes & Infections*, 9(1): 747-756, 2020. Disponível em: < https://doi.org/10.1080/22221751.2020.1745095>. Acesso em: 23 mar. 2023.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Coronavirus disease (covid-19) - Situation Report – 141. Data as received by WHO from national authorities by 10:00 CEST, 9 June 2020. Disponível em: <www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/situation-reports/>. Acesso em: 9 jun. 2020.

XIAO, F. *et al*. Infectious SARS-CoV-2 in feces of patient with severe covid-19. *Emerging Infectious Disease*, 26(8): 1920-1922, 2020.

Vírus sincicial respiratório

CHONG-SILVA, D. & ROSÁRIO, N. A. Respiratory syncytial virus: from discovery to treatment. *Virus Review Research*, 19: 2-9, 2014.

FALSEY, A. E. *et al*. Respiratory syncytial virus and other respiratory viral infections in older adults with moderate to severe influenza-likeillness. *The Journal of Infectious Diseases*, 209(12): 1.873-1.881, 2014.

FREITAS, A. R. R. & DONALISIO, M. R. Respiratory syncytial virus seasonality in Brazil: implications for the immunisation policy for at-risk populations. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 111(5): 294-301, 2016.

Outros vírus respiratórios: rinovírus, parainfluenza e metapneumovírus

BOIVIN, G. *et al.* Human metapneumovirus infections in hospitalized children. *Emerging Infectious Disease*, 9(6): 634-640, 2003.

BROOR, S.; BHARAJ, P. & CHAHAR, H. S. Human metapneumovirus: a new respiratory pathogen. *Journal of Bioscience*, 33(4): 483-493, 2008.

CENTERS POR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). Non-polio enterovirus. Atlanta: CDC, 2015. Disponível em: <www.cdc.gov/non-polio-enterovirus/about/EV-D68.html>. Acesso em: 20 abr. 2016.

VAN DEN HOOGEN, B. G. *et al.* A newly discovered human pneumovirus isolated from young children with respiratory tract disease. *Nature Medicine*, 7(6): 719-724, 2001.

ESPER, F. *et al*. Human metapneumovirus infection in the United States: clinical manifestations associated with a newly emerging respiratory infection in children. *Pediatrics*, 111(6): 1.407-1,410, 2003.

JACOBS, S. E. *et al*. Human rhinoviruses. *Clinical Microbiology Reviews*, 26(1): 135-162, 2013.

KAHN, J. F. Human metapneumovirus: a newly emerging respiratory pathogen. *Current Opinion in Infectious Diseases*, 16: 255-258, 2003.

MCINTYRE, C. L. *et al*. Recombination in the evolution of human rhinovirus genomes. *Archives of Virology*, 158(7): 1.497-1.515, 2013.

MORGAN, O. W. *et al*. Hospitalization due to human parainfluenza virus-associated lower respiratory tract illness in rural Thailand. *Influenza and Other Respiratory Viruses*, 7: 280-285, 2013.

THOMAZELLI, L. M. *et al*. Human parainfluenza virus surveillance in pediatric patients with lower respiratory tract infections: a special view of parainfluenza type 4. *Jornal de Pediatria (Rio de Janeiro)*, 94: 554-558, 2018.

Sarampo

MINA, M. J. *et al*. Measles virus infection diminishes preexisting antibodies that offer protection from other pathogens. *Science*, 366(6.465): 599-606, 2019. Disponível em: <DOI: 10.1126/science.aay6485>. Acesso em: 20 abr. 2020.

Rubéola

BRASIL. Ministério da Saúde. Nota Informativa Rubéola, 2015. Disponível em: <http://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2015/dezembro/03/Novo-modelo-de-Nota-Informativa-Rubeola-021015.pdf>. Acesso em: 29 abr. 2016.

GRANT, G. B. *et al*. Progress toward rubella and congenital rubella syndrome control and elimination - worldwide, 2000-2018. *Morbidity and Mortality Weekly Report*, 68(39): 855-859, 2019. Disponível em: <doi:10.15585/mmwr.mm6839a>. Acesso em: 20 abr. 2021.

Caxumba

BAUM, S. G. Mumps virus. *In*: BENNETT, J. E.; DOLIN, R. & BLASER, M. J. *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*. 8. ed. v. 2. Amsterdam: Elsevier, 2015.

Varicela

BRASIL. Ministerio da Saude. Catapora (Varicela): causas, sintomas, diagnóstico, tratamento e prevenção. Disponível em: <http://saude.gov.br/saude-de-a-z/varicela-catapora>. Acesso em: 20 mai. 2016.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Varicella and herpes zoster vaccines: WHO position paper, June 2014 – recommendations. Vaccine. 2016;34:198-9 Disponível em: <https://www.who.int/publications/i/item/who-wer-8925-265-288>. Acesso em: 20 mar. 2023.

5

Viroses de Transmissão Parenteral e/ou Sexual

Diogo Gama Caetano • Flávia Carolina de Paula Divino • Geane Lopes Flores • Helena Medina Cruz • Letícia de Paula Scalioni • Livia Melo Villar • Monick Lindenmeyer Guimarães • Nathalia Beatriz Ramos de Sá • Suwellen Sardinha Dias de Azevedo • Sylvia Lopes Maia Teixeira • Thaysse Cristina Neiva Ferreira Leite • Vanessa Salete de Paula

São apresentados e caracterizados, aqui, os vírus transmitidos pelas vias parenteral e/ou sexual, os quais possuem impacto importante no contexto da saúde pública no Brasil e no mundo. São eles: vírus da imunodeficiência humana, vírus linfotrópico de células T humanas, vírus da hepatite B, vírus da hepatite C, papilomavírus humano e herpesvírus.

Vírus da Imunodeficiência Humana

O vírus da imunodeficiência humana (HIV) pertence à ordem *Ortervirales*, à família *Retroviridae*, à subfamília *Orthoretrovirinae* e ao gênero *Lentivirus*. A partícula viral apresenta 100 nm a 120 nm de diâmetro, sendo envolvida por um envelope associado com as glicoproteínas (gp) gp120 (superfície), gp41 (transmembrana) e a p17 (matriz), esta última forma uma camada na superfície interna do envelope. A proteína gp120 possui sítios de ligação aos receptores celulares, sendo esses importantes domínios para estudos de neutralização e de intervenções no ciclo viral. Após alterações conformacionais da gp120, a gp41 promoverá, por meio do peptídeo de fusão, a fusão das

Proteína associada a resíduos de açúcar.

Cadeia de aminoácidos da glicoproteína gp41 que permite a fusão do envelope do vírus à membrana celular do hospedeiro, sendo etapa essencial da biossíntese viral.

Enzima capaz de realizar a transcrição em sentido inverso, ou seja, promove uma retrotranscrição do genoma, produzindo DNA a partir de RNA.

Enzima que integra o DNA produzido pelo vírus ao DNA da célula hospedeira.

membranas celular e viral. Essa estrutura membranosa envolve o capsídeo viral de formato cônico, formado pela proteína p24, que contém internamente dois filamentos de RNA fita simples e de polaridade positiva, cada qual associado a três enzimas: transcriptase reversa (TR) (p66/p51), integrase (p31) e protease (p15) (Figura 1).

Enzima responsável por quebrar as ligações peptídicas entre os aminoácidos das proteínas, normalmente envolvidas com o processo de maturação viral.

O genoma viral conta com cerca de 9,8 kilobases (kb), sendo composto de nove genes que seguem as seguintes denominações e funções: 1) *GAG*, *POL* e *ENV*, genes comuns a todos os retrovírus, que codificam importantes proteínas e enzimas com participação direta na estrutura e/ou no ciclo viral; 2) *TAT* e *REV*, genes regulatórios; 3) *NEF*, *VIF*, *VPR* e *VPU* (HIV-1) ou *VPX* (HIV-2), genes acessórios; e 4) *LTR*, terminações longas repetidas. Essas são regiões importantes na regulação da transcrição dos provírus e não codificam proteínas. No entanto, estão presentes apenas no DNA proviral.

Existem dois tipos de HIV – HIV-1 e HIV-2 – e esses tipos e seus grupos têm origens em transmissões zoonóticas distintas e independentes. Com relação aos quatro grupos de HIV-1, o grupo M (*major*) é o responsável pela pandemia de aids no mundo e causa mais de 99% de todas as infecções desse tipo. O grupo O (*outlier*) foi descoberto em 1990; representa menos de 1% das infecções globais de HIV-1, sendo os casos descritos restritos a Camarões, Gabão e países vizinhos. O grupo N (*non-M, non-O*) foi identificado em 1998 e é menos prevalente do que o grupo O. Finalmente, o grupo P foi identificado, até o momento, em dois indivíduos de Camarões.

Caracteriza-se pela disseminação de uma doença infectocontagiosa por diversos países ou continentes, com aumento expressivo do número de casos em nível mundial, tomando grandes proporções.

Análises filogenéticas de genomas completos evidenciaram que o grupo M do HIV-1 diversificou-se por intermédio de mecanismos geradores de diversidade, tais como alta taxa de replicação, não correção de erros introduzidos pela enzima TR e eventos de recombinação, em razão dos saltos da TR entre as duas fitas de RNA. Essa diversificação deu origem a diferentes subtipos: A, B, C, D, F, G, H, J, K e L; os subtipos A e F apresentam

Termo utilizado na classificação molecular; define tipos geneticamente distintos de um vírus.

subsubtipos: A1-A4, A6, A7, A8, F1-F2. A denominação não segue a ordem alfabética, pois se observou, posteriormente, que os subtipos E e I não eram puros, mas sim formas recombinantes.

Termo utilizado na classificação molecular; caracteriza a divisão dos subtipos em grupos menores, com base na distância genética.

As formas recombinantes podem ser circulantes (CRFs) ou formas recombinantes únicas (URFs) (Figura 2). As CRFs geralmente possuem relevância epidemiológica; para sua classificação, é necessária a detecção em ao menos três indivíduos não relacionados epidemiologicamente e suas sequências devem ter os mesmos pontos de recombinação ao longo do genoma. As URFs não têm importância epidemiológica e são detectadas em um único indivíduo. Dentro de um mesmo subtipo, a distância genética entre as sequências nucleotídicas pode chegar a 30%, e a variação entre os diferentes subtipos pode ser de até 42%. A distância genética entre sequências de HIV-1 e HIV-2 excede 50%. Esses percentuais podem variar de acordo com a região genômica avaliada.

Análises filogenéticas demonstraram que o HIV-2 pode ser dividido em nove grupos definidos de A a I; entretanto, apenas A e B têm se disseminado. Todos os outros grupos de HIV-2 foram identificados somente em casos isolados na África Ocidental, mostrando que tais grupos não encontraram condições favoráveis à sua disseminação.

Figura 1 – Representação esquemática da partícula viral do HIV

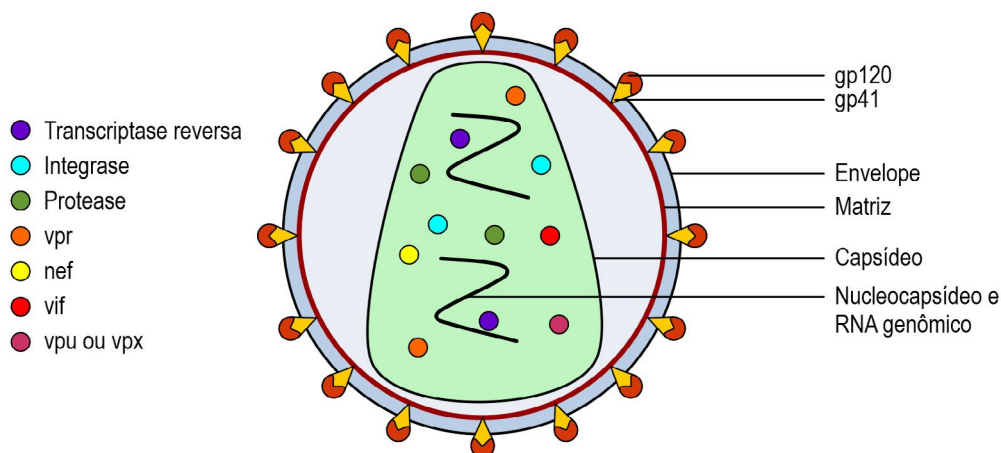
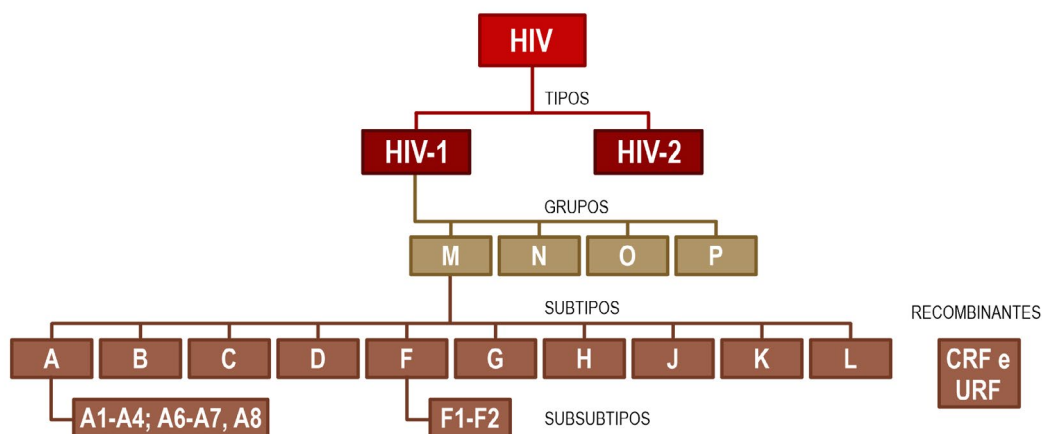



Figura 2 – Classificação genética do HIV, com ênfase no HIV-1

Formas de transmissão

O HIV já foi detectado em todos os fluidos orgânicos de indivíduos infectados, sendo encontrado em quantidades não infectantes no suor, na lágrima, na urina e na saliva. Em quantidades potencialmente infectantes, foi verificado no sangue, nos fluidos sexuais (esperma e secreções vaginais) e no leite materno.

As formas de transmissão do HIV são fundamentalmente três:

- Via parenteral, no contato direto do vírus com a corrente sanguínea. Inclui a transfusão de sangue ou de componentes sanguíneos infectados pelo vírus, o compartilhamento de seringas e/ou agulhas infectadas entre pessoas que fazem uso de drogas injetáveis, o risco ocupacional (risco biológico) e a exposição de mucosas ao sangue infectado.
- Via sexual, nas relações sexuais por intercurso vaginal, anal, ou por sexo oral, sem o uso de preservativo; essa é a via mais comum, responsável por mais de 75% das infecções no mundo. O risco é maior entre homens que fazem sexo com homens (HSH) devido às altas concentrações do vírus nos tecidos associados ao intestino e à pos-

sibilidade de ocorrência de microfissuras durante o sexo anal. Fatores de risco para a transmissão incluem carga viral elevada do parceiro, outras infecções sexualmente transmissíveis (ISTs) e menstruação.

Quantidade de vírus presente em certo volume de sangue ou outro fluido biológico.

- Transmissão vertical, da mãe para o bebê. Pode ocorrer quando o feto ainda está no útero (intrauterina), durante o parto (pelo contato com o sangue materno e/ou as secreções cérvico-vaginais) ou no pós-parto, durante o período de aleitamento materno. Essa forma é influenciada pelo nível de carga viral materna e pela integridade da placenta. A administração da terapia antirretroviral (TARV) para a gestante (a partir da 14ª semana de gestação) serve como profilaxia da transmissão vertical. A definição do tipo de parto será baseada no resultado da carga viral realizada a partir da 34ª semana de gestação, em associação com a avaliação obstétrica. O parto por cesárea e o não aleitamento diminuem drasticamente o risco de transmissão (de 30% a menos de 1%), assim como o tratamento profilático do bebê. Tais medidas profiláticas impactam positivamente a redução da transmissibilidade por essa via, levando a níveis próximos a zero de transmissão vertical do HIV no Brasil.

A probabilidade de risco de transmissão do HIV pelas diferentes vias foi estimada na seguinte ordem, do maior para o menor risco: transfusão sanguínea (se o sangue não fosse testado), transmissão vertical, intercurso anal receptivo, compartilhamento de seringa para uso de drogas injetáveis, sexo peniano-vaginal insertivo, sexo peniano-vaginal receptivo e sexo anal insertivo. As exposições com menores riscos são a transmissão por sexo oral receptivo e insertivo.

Modo como os agentes causadores de doenças agridem o nosso organismo e o sistema imune reage a estes, surgindo, assim, lesões e disfunções das células e tecidos agredidos, levando à doença.

Patogenia e manifestações clínicas

A infecção pelo HIV-1 inicia-se com a entrada do vírus nas células-alvo do hospedeiro que expressam tanto a molécula CD4 – tais como linfócitos T CD4⁺, células dendríticas (DCs) e

Células especializadas na apresentação de antígenos aos linfócitos T, desempenhando importante papel no desenvolvimento da resposta imune.

Célula do sistema imune que engloba e destrói elementos estranhos, por meio de um mecanismo denominado fagocitose.

Proteína presente na superfície celular que se liga a uma molécula do vírus e atua em conjunto com outro receptor para iniciar um processo biológico, como por exemplo a entrada de um vírus numa célula hospedeira.

macrófagos – quanto correceptores da família das quimiocinas α e β, principalmente o CCR5 e CXCR4. A ligação entre as glicoproteínas do envelope viral e a membrana da célula do hospedeiro leva à fusão dessas estruturas e à internalização do capsídeo viral para o citoplasma. Uma vez dentro da célula, a TR combinada ao vírion direciona a transcrição reversa do RNA viral em DNA, que em seguida é duplicado.

O DNA de fita dupla é transportado do citoplasma até o núcleo celular, por meio da associação ao complexo pré-integração (CPI). Esse complexo é composto de proteínas celulares e virais, como a integrase, que parece mediar a importação do complexo para o núcleo, catalisando a integração do DNA viral ao DNA cromossômico da célula hospedeira. Essa integração no genoma do hospedeiro é uma característica fundamental dos retrovírus e uma etapa essencial no ciclo de vida do HIV-1. Tal integração permite a ocorrência do fenômeno de persistência viral, que consiste na manutenção da replicação do vírus em células específicas do indivíduo infectado.

Genoma viral integrado ao DNA da célula hospedeira.

Após sua integração, o DNA viral passa a ser denominado provírus e pode ter sua expressão acionada juntamente com os genes da célula hospedeira, tendo o potencial de ser transcrito em RNA e, portanto, servindo de molde para que ocorra a tradução. Posteriormente, ocorre a montagem dos componentes virais para a formação da partícula viral e sua subsequente liberação ou brotamento. As partículas passarão pelo processo de maturação por ação da protease viral e, após essas etapas, tornam-se capazes de infectar novas células suscetíveis, seja na forma de partículas livres seja através de sinapses virológicas pelo contato célula a célula.

Transmissão do vírus através do contato entre duas células.

A patogênese da infecção pelo HIV-1 e sua história natural dependem de diversos fatores relacionados à interação do vírus com o hospedeiro. Essa relação é refletida na heterogeneidade da pandemia de aids, uma vez que entre os indivíduos expostos ao HIV-1, uma fração pode não se infectar (expostos não infectados) e, dentre os infectados, o curso e a duração da doença podem variar consideravelmente.

Diversos fatores genéticos, imunológicos e virológicos estão associados ao curso da infecção pelo HIV. A história natural da infecção pelo HIV-1 pode ser dividida em três fases com características distintas: fase aguda, fase de latência clínica e fase de aids.

Estágio em que o vírus não se replica e não forma novas partículas, portanto, não infecta novas células hospedeiras.

A fase aguda compreende o período das primeiras semanas após a infecção pelo HIV até a soroconversão, que costuma ocorrer por volta da terceira semana após a infecção. Nesta fase, geralmente os indivíduos apresentam sinais e sintomas inespecíficos como febre, adenopatia, cefaleia, mialgia, perda de peso e náusea; por isso, geralmente ela passa despercebida. Corresponde ao período de alta viremia, no qual a produção de novos vírions é da ordem de 10^7 a 10^8 cópias de RNA viral por mL de plasma. Nessa fase, há a disseminação do vírus para diversos locais do corpo (principalmente para os tecidos linfoides) e o estabelecimento da infecção em vários tipos de células, como macrófagos, células dendríticas e linfócitos T $CD4^+$. A resolução da fase aguda ocorre com a estabilização da viremia e com a recuperação parcial da contagem de linfócitos T $CD4^+$.

Momento da infecção em que ocorre o aparecimento dos anticorpos no soro do indivíduo infectado em quantidade suficiente que permite a confirmação diagnóstica.

Dores musculares.

Aumento do tamanho dos gânglios linfáticos que pode ser decorrente da proliferação de linfócitos, ou de células neoplásicas, ou ainda da migração de células inflamatórias.

Presença de vírus no sangue.

Com o fim da fase aguda, a infecção entra num período crônico, geralmente assintomático, conhecido como fase de latência clínica, em virtude da ausência de sinais e sintomas. Esse período caracteriza-se pela elevada replicação viral persistente e pela perda lenta e gradativa de linfócitos T $CD4^+$. A duração da fase de latência clínica é extremamente variável; perfis de progressão distintos podem ser observados entre os indivíduos infectados pelo HIV. A maioria deles (70% a 80%), denominada progressores típicos, progride para a aids em um intervalo de quatro a dez anos após a infecção. Cerca de 10% dos indivíduos, conhecidos como progressores rápidos, desenvolvem aids no prazo de até 3 anos após a infecção. Uma fração pequena de pacientes (cerca de 5%), denominada de não progressores de longo termo (LTNPs) permanece assintomática por mais de dez anos

Processo pelo qual um vírus se multiplica dentro de uma célula de um organismo vivo.

após a infecção, mesmo na ausência de tratamento, mantendo a viremia baixa e contagem de linfócitos T $CD4^+$ em níveis normais.

Ao fim da fase de latência clínica, a quantidade de linfócitos T $CD4^+$ declina de modo constante. Quando as contagens de células T $CD4^+$ atingem valores muito baixos (na maioria das vezes abaixo de 200 células por mm^3 de sangue), inicia-se uma fase denominada fase de aids, caracterizada pelo aparecimento de infecções oportunistas – por exemplo, tuberculose, toxoplasmose, pneumocistose e retinite por citomegalovírus – e aumento da viremia. Essa etapa marca o início da fase sintomática que, sem o uso da TARV, leva ao óbito.

Com o emprego da TARV, o curso clínico da infecção pelo HIV-1 pode ser alterado. Esses medicamentos suprimem a replicação viral, atuando em diversas etapas do ciclo replicativo, impedindo, assim, a multiplicação do vírus no organismo e proporcionando aumento da sobrevida e qualidade de vida dos indivíduos infectados.

A patogênese da infecção pelo HIV é caracterizada pela dificuldade do sistema imunológico em suprimir completamente a replicação viral. A quantidade de células T $CD4^+$ é reduzida progressivamente e o organismo entra em um estado de hiperativação imunológica. No fim da década de 1980, reconheceu-se que essa hiperativação é um fator determinante para a imunodeficiência observada na infecção. Os eventos são acompanhados por mudanças significativas no perfil de citocinas e quimiocinas, além da presença de marcadores de ativação em diversas células do organismo. Ainda não estão completamente elucidadas as causas da ativação imunológica associada à infecção pelo HIV, porém fatores relacionados à ação do vírus podem ter influência nesse processo. Alguns estudos mostram que as glicoproteínas do envelope do HIV (gp120 e gp41), quando se ligam ao receptor CD4 e ao correceptor CCR5 – e/ou CXCR4 –, promovem a ativação de processos de sinalização intracelular que resultam na ativação do sistema imunológico do hospedeiro.

Resposta imunológica desencadeada de forma exacerbada no organismo.

Estudos no campo da genética têm fornecido esclarecimentos importantes sobre a resistência, a suscetibilidade e a progressão de doenças infecciosas, uma vez que a enorme diversidade de

fenótipos associados a essas doenças pode estar relacionada ao genótipo encontrado no hospedeiro. Na infecção pelo HIV-1, tanto a genética viral como a do hospedeiro influenciam o curso da infecção e a evolução para aids. Diversos estudos buscam identificar marcadores genéticos do hospedeiro que agem na dinâmica da infecção pelo HIV-1 e, dessa forma, encontrar genes que interferem na patogênese. Sabe-se que a resposta imune contra o HIV-1 é modulada por diversos determinantes genéticos do hospedeiro, os quais codificam moléculas ou proteínas que estão direta ou indiretamente relacionadas ao reconhecimento do vírus, tais como: os receptores de quimiocinas tipo 5 (CCR5), os antígenos leucocitários humanos (HLAs), os receptores de células T (TCRs), os receptores de imunoglobulinas de células matadoras naturais (KIRs), receptores *toll-like* (TLRs), genes do inflamassoma celular, genes de citocinas e quimiocinas, entre outros.

Manifestação de uma característica genética, determinada pelo genótipo e pelo ambiente.

Informação presente nos genes de um indivíduo, os quais se organizam em conjunto para determinar suas características.

Conjunto de proteínas presentes no citoplasma da célula que atua na produção de citocinas e na resposta inflamatória.

Diagnóstico

O diagnóstico do HIV é realizado por meio da combinação de testes que visam à detecção de anticorpos anti-HIV ou de antígenos virais, à amplificação do genoma viral ou ao isolamento de partículas virais mediante técnicas de cultura *in vitro*. Atualmente, de acordo com o algoritmo do Ministério da Saúde (MS), a triagem inicial da grande maioria dos indivíduos com suspeita de infecção pelo HIV é realizada por teste rápido, o qual utiliza a técnica de imunocromatografia para detecção de anticorpos anti-HIV-1 e 2 para obtenção de resultados em até 30 minutos. Em caso de resultado positivo, indeterminado ou discordante, novas amostras são submetidas a testes confirmatórios através de ensaio imunoenzimático (EIE) e o de quarta geração (considerado padrão-ouro) ou a imunofluorescência indireta (IFI). A metodologia de

Ou teste imunocromatográfico: técnica que utiliza reagentes que permitem a visualização do resultado por meio da revelação por cor.

Técnica utilizada para a detecção e quantificação de antígenos, anticorpos ou proteínas.

Técnica para detecção de anticorpos em duas etapas que utiliza uma molécula fluorescente para identificação destes.

Técnica para detecção e quantificação de proteínas por meio da transferência entre membranas e da utilização de anticorpos.

western blot para detecção de proteínas virais pode, ainda, ser utilizada como teste complementar nesses casos.

Outras técnicas, incluindo testes de detecção de antígenos, DNA e RNA viral e técnicas de cultivo viral são utilizadas para esclarecimento de exames sorológicos indeterminados, acompanhamento laboratorial de pacientes e mensuração da carga viral para controle de tratamento. Em casos nos quais a existência de anticorpos anti-HIV seja incerta, os testes de detecção de RNA viral por PCR em tempo real (qPCR), de DNA proviral através de reação em cadeia da polimerase (PCR) ou qPCR e do antígeno viral p24 por sorologia podem ser realizados. Essas situações incluem indivíduos com suspeita de infecção recente, já que a produção de anticorpos pelos indivíduos inicia-se entre três e 12 semanas após a infecção, e crianças menores de 2 anos, que podem apresentar anticorpos maternos transferidos passivamente através da placenta.

Sigla para a técnica de reação em cadeia da polimerase, que é empregada para se obterem múltiplas cópias de um pedaço de DNA para estudos moleculares.

Uma vez diagnosticados, os indivíduos infectados são acompanhados clinicamente, realizando a coleta de amostras de sangue regulares para a realização de ensaio de quantificação de carga viral plasmática por qPCR e contagem de células T $CD4^{+}$ por citometria de fluxo. Para indivíduos em tratamento e com carga viral suprimida, o acompanhamento é feito pelo menos a cada seis meses, podendo ser realizado em intervalos mais curtos em períodos de adaptação à TARV.

Epidemiologia

Desde o início da pandemia de HIV/aids, nos primeiros anos da década de 1980, 74,9 milhões de pessoas foram infectadas pelo HIV no mundo e 32 milhões morreram por doenças relacionadas à aids. De acordo com o Programa Conjunto das Nações Unidas sobre HIV/aids (Unaids), 38,4 milhões de pessoas viviam com HIV no mundo, em 2021, sendo 36,7 milhões de adultos e 1,7 milhão de menores de 15 anos. O número anual de novas infecções – considerando todas as idades – diminuiu, desde 2010, de 2,1 milhões para 1,5 milhão, em 2021, uma redução de 29% que deixou o mundo distante da meta de menos de 500 mil novas infecções até 2020.

O número anual de óbitos por doenças relacionadas à aids entre pessoas vivendo com HIV, considerando todas as idades, em todo o mundo, caiu de 1,7 milhão em 2004 para 650 mil em 2021.

O declínio global de óbitos relacionados ao HIV/aids tem sido amplamente causado por progressos alcançados na África do Sul e na África Oriental, que abrigam 54% da população mundial vivendo com HIV. A mortalidade relacionada à aids nessas regiões diminuiu 58% de 2010 a 2021, em decorrência, principalmente, do crescente acesso à TARV. O número de pessoas em uso da terapia alcançou 28,7 milhões em 2021, o equivalente a 74,7% dos indivíduos infectados pelo HIV, constituindo um grande passo para a redução das taxas de mortalidade e transmissão.

Na América Latina, 2,2 milhões de pessoas viviam com HIV em 2021, sendo a quase totalidade de casos estimados em adultos; desse total, havia 33 mil crianças de 0 a 14 anos acometidas. No mesmo ano, foram estimadas 110 mil novas infecções. O número de óbitos chegou a 29 mil no continente em 2021, refletindo uma redução de 28% em relação a 2010.

No Brasil, de 1980 a 2022, foram identificados 1.088.536 casos de aids, com uma incidência de 0,24% em todas as idades, e prevalência – porcentagem de pessoas vivendo com HIV – de 0,6% entre adultos; em 2021, 13 mil pessoas morreram de doenças relacionadas à aids. Por um lado, o número de mortes é estável desde 2010; por outro, o número de novas infecções por HIV aumentou, de 44 mil para 50 mil, no mesmo período. A epidemia de HIV/aids entre os jovens tem ocupado lugar de destaque no cenário epidemiológico brasileiro, observando-se um incremento nas taxas de detecção de aids na população jovem do sexo masculino entre 2011 e 2021. Regionalmente, são 183.901 (42,3%) na região Sudeste, 89.988 (20,7%) na região Nordeste, 84.242 (19,4%) na região Sul, 42.957 (9,9%) na região Norte e 33.715 (7,7%) na região Centro-Oeste.

Caracteriza-se pelo aumento do número de casos de uma doença infectocontagiosa em diversas regiões, cidades ou estados, porém sem atingir níveis globais, em um curto período.

A disseminação global do grupo M do HIV-1 na segunda metade do século XX levou a uma distribuição diferencial dos subtipos e das formas recombinantes. Baseando-se em sequências de 2010-2015, o subtipo C é o mais prevalente mundialmente, responsável por quase 50% das infecções,

seguido pelo subtipo B (12,1%), subtipo A (10,3%), CRF02_AG (7,7%), CRF01_AE (5,3%), subtipo G (4,6%) e subtipo D (2,7%). Além disso, todas as formas recombinantes representam aproximadamente 23% das infecções, enquanto os subtipos F, H, J, K e L têm uma prevalência limitada. No entanto, a contribuição de cada subtipo varia significativamente de uma região do globo para outra.

No continente americano, predomina o subtipo B, detectado em toda sua área geográfica. Em adição a esse, outros apresentam relevância epidemiológica, tais como os subtipos F e as formas recombinantes BF que circulam na América do Sul, especialmente no Brasil, na Argentina e no Uruguai. A epidemia brasileira é composta majoritariamente dos subtipos B, F1 e C, além das formas recombinantes entre eles. O subtipo B apresenta uma prevalência de 19% a 97%, seguido pelo subtipo C (<1% a 66%) e pelo subsubtipo F1 (<1% a 23%), e por uma ampla variedade de recombinantes BF1 e BC. A distribuição dos subtipos do HIV-1, entretanto, não é homogênea em todo o país, observando-se cenários epidemiológicos diferentes em cada região, com destaque para a região Sul que, diferentemente das demais, apresenta alta prevalência do subtipo C e recombinantes BC.

Vírus Linfotrópico de Células T Humanas

O vírus linfotrópico de células T humanas (HTLV) pertence à família *Retroviridae*, à subfamília *Orthoretrovirinae* e ao gênero *Deltaretrovirus*. O HTLV tem quatro tipos distintos já identificados: HTLV-1, HTLV-2, HTLV-3 e HTLV-4. O HTLV-1 foi descoberto nos Estados Unidos, em 1979, e descrito no ano seguinte como o primeiro retrovírus humano. Pouco tempo depois, em 1982, um outro retrovírus foi isolado de um indivíduo com leucemia – um vírus menos patogênico, porém bastante similar ao HTLV-1 –, sendo classificado como HTLV-2. Os HTLV tipos 1 e 2 tiveram origem independente e estão relacionados a linhagens distintas de vírus linfotrópicos de células T de símios (STLV-1 e STLV-2, respectivamente). Aparentemente, esses vírus são o resultado de múltiplas transmissões inte-

respécies ocorridas para o homem com origem em primatas não humanos (PNHs). Dois outros tipos, os HTLV-3 e HTLV-4, foram descritos em 2005, em um local geograficamente isolado, nas regiões florestais de Camarões, mantendo-se restritos a essa localidade.

O genoma é composto por duas moléculas de RNA de fita simples iguais, com cerca de 9 kb, contendo genes estruturais (*GAG*, *POL* e *ENV*), e a região pX que contém os genes *Tax* (p40), *rex* (p27), HTLV-1 bZIP factor (*HBZ*), p12, p13, p30 e p21, além de, nas extremidades, duas terminações longas repetidas (LTR). Além do genoma, estão presentes as enzimas TR, integrase, protease e ribonuclease (RNase) H, essenciais para o estabelecimento da infecção viral.

Enzima que degrada moléculas de RNA.

Como vírus oncogênicos (vírus associados à transformação celular), os HTLVs mantêm o seu ciclo replicativo a partir da inserção do seu genoma no DNA da célula hospedeira, passando a se chamar provírus. Os HTLV-1 e 2 são os dois membros mais bem caracterizados do ponto de vista epidemiológico e molecular.

Formas de transmissão

Existem três vias principais de transmissão do HTLV: vertical (intrauterina, transplacentária, durante o parto e amamentação), parenteral (compartilhamento de seringas, agulhas e outros perfurocortantes, transfusão de sangue e hemoderivados, entre outras) e sexual (relações desprotegidas). Considerando o reduzido número de células infectadas pelos HTLVs no sangue periférico e em outros fluidos corporais, a via mais comum de transmissão vertical do HTLV-1 é a amamentação, uma vez que está diretamente relacionada a altos níveis de linfócitos infectados que podem ser encontrados no leite materno, e transmitidos com a duração prolongada do aleitamento materno do recém-nascido. Assim, seria de suma relevância a inclusão da investigação de HTLV durante o pré-natal, em países que ainda não o fazem, como é o caso do Brasil. Apesar de a transmissão do HTLV-2 também ocorrer pelas vias vertical e sexual, a forma parenteral – com o compartilhamento de agulhas contaminadas entre usuários de drogas intravenosas – é a mais frequente.

Patogenia e manifestações clínicas

Propensão que um vírus tem em infectar determinado tipo de célula ou tecido em especial.

Os HTLV apresentam propriedades biológicas e estrutura genômica semelhantes, porém o HTLV-1 e o HTLV-2 diferem principalmente quanto ao tropismo celular *in vivo*. O HTLV-1 infecta predominantemente os linfócitos T CD4+, enquanto o HTLV-2, preferencialmente os linfócitos T CD8+, um tropismo que será determinante para a ocorrência de distintas patologias. Dois correceptores, o transportador de glicose 1 (GLUT1) e a neuropilina 1 (NRP1), atuam como moléculas receptoras para HTLV-1 e HTLV-2; contudo, o HTLV-1 utiliza um correceptor adicional, a proteoglicana de sulfato de heparano (HSPG), que está expressa em altos níveis em células T CD4+ em comparação com GLUT1. Em contrapartida, o HSPG é pouco expresso em células T CD8+.

O HTLV-1 está associado a doenças neurológicas degenerativas graves, como a paraparesia espástica tropical/mielopatia associada ao HTLV-1 (HAM/TSP), e a patologias hematológicas, como a leucemia/linfoma de células T do adulto (ATLL). Além disso, a infecção pelo HTLV-1 está relacionada a outras condições inflamatórias – por exemplo, uveíte, conjuntivite, ceratite intersticial, dermatite infecciosa, artrite, miosite, síndrome de Sjögren, tireoidite de Hashimoto, doença de Graves e polineuropatias. Pacientes infectados pelo HTLV-1 com ATLL frequentemente desenvolvem tuberculose, em razão de seu estado imunocomprometido; e a infecção disseminada pelo nematódeo *Strongyloides stercoralis*, no contexto da infecção pelo HTLV-1, ocorre provavelmente pela diminuição de fatores que atuam na resposta anti-helmíntica, como a imunoglobulina E (IgE) e as interleucinas (IL) IL-4, IL-5 e IL-13. De forma geral, as infecções pelo HTLV-1 são assintomáticas em 95% dos casos, enquanto a ATLL pode acometer até 3% dos infectados e a HAM/TSP representa de 0,3% a 4% das infecções pelo HTLV-1.

Verme de corpo alongado e extremidades afiladas.

Anticorpo presente na superfície de células sanguíneas, normalmente associado a reações alérgicas.

Proteína produzida por leucócitos que media e regula processos imunológicos.

A ATLL é uma doença agressiva, letal e incurável; os sinais e sintomas mais comuns incluem: mal-estar, febre, linfoadenopatia, hipercalcemia,

Aumento de tamanho dos gânglios linfáticos, quando acima de 1 cm e palpável, decorrente de processo patológico.

hepatoesplenomegalia, icterícia, perda de peso, infiltrado pulmonar e envolvimento cutâneo e da medula óssea. A patologia tem um período de latência de mais de 30 anos e pode ser dividida em: aguda (sobrevida de 4 a 6 meses); linfoma (sobrevida de 9 a 10 meses); crônica (sobrevida de 17 a 24 meses) e latente (sobrevida de 4 a mais de 5 anos), de acordo com a contagem de linfócitos, o envolvimento com órgãos sólidos, os distúrbios bioquímicos e a gravidade dos sintomas.

Aumento anormal de tamanho do fígado e do baço em conjunto.

A HAM/TSP é uma síndrome desmielinizante crônica e incapacitante, caracterizada pela presença de sintomas iniciais de fraqueza e rigidez nos membros inferiores, disfunção erétil, incontinências urinária e/ou intestinal, além de dores nas partes inferiores das pernas e nas costas. A doença acomete indivíduos, em sua maior parte, na quarta e na quinta décadas de vida e, mais raramente, antes dos 20 e após os 70 anos.

Até o momento, a infecção pelo HTLV-2 não apresenta nenhuma correlação clínica com doenças linfoproliferativas, de modo que a maioria das infecções é assintomática. Todavia, há alguns relatos de sintomas do tipo HAM/TSP descritos e, inclusive, evidências de associação com doenças neurológicas e aumento da incidência de pneumonia e bronquites.

Doenças em que os linfócitos se proliferam em quantidades excessivas.

Diagnóstico

O diagnóstico das infecções por HTLV-1/2 pode ser realizado por diversas técnicas, e atualmente os diagnósticos sorológicos e moleculares são os mais utilizados. A sorologia é feita para pesquisa de anticorpos utilizando ensaios imunoenzimáticos e a confirmação é realizada por *western blot*. A detecção de antígenos virais acontece após o cultivo de células infectadas ou pela detecção do ácido nucleico por PCR para diferenciação de HTLV-1/2.

Dificuldades no diagnóstico sorológico da infecção causada pelo HTLV dos tipos 1 e 2 são relativamente frequentes nos países onde esses vírus são endêmicos. Nesses casos, opta-se por utilizar ensaios confirmatórios, como

Ensaio que compreende um sistema baseado em tiras com antígenos específicos para a detecção de anticorpos na amostra biológica a ser testada.

western blot, imunoensaio em linha ou PCR. Contudo, não há um consenso sobre qual deles é melhor na confirmação dos casos inconclusivos ou não tipificáveis. Um estudo recente, realizado no Brasil, mostrou que o imunoensaio em linha é o melhor teste sorológico para confirmação de infecções por HTLV-1 e HTLV-2, independentemente de ser aplicado em indivíduos infectados por HTLV ou coinfectados com outros vírus. Vale ressaltar que o diagnóstico das infecções por HTLV-1/2 ainda não foi incorporado em bancos de sangue de alguns países.

Epidemiologia

O HTLV é um vírus cosmopolita, com ampla distribuição mundial. As áreas consideradas de maior prevalência no mundo são Japão, África, ilhas do Caribe, América do Sul e América Central. A Europa e a América do Norte, apesar de terem baixas prevalências, apresentam casos de infecção restritos, em geral, a grupos de imigrantes provenientes de áreas endêmicas. O HTLV-1 é o mais difundido, com estimativas de 5 a 10 milhões de pessoas infectadas em todo o mundo. O HTLV-1 é subdividido em sete subtipos (a-g). O subtipo cosmopolita HTLV-1a é o mais difundido – subgrupos endêmicos no Japão, nas Américas Central e do Sul, no Caribe, na África do Norte e Ocidental e em regiões do Oriente Médio –, sendo ainda subdividido em seis subgrupos: transcontinental (HTLV-1aA), japonês (HTLV-1aB), Oeste Africano (HTLV-1aC), Norte da África (HTLV-1aD), peruano com origem africana (HTLV-1aE) e senegalês (HTLV-1aF). O subtipo HTLV--1b disseminou-se em países da África Central, e o HTLV-1c (subtipo da Melanésia) é constituído de isolados virais identificados em Papua Nova Guiné e na Austrália, em aborígenes. O subtipo HTLV-1d foi isolado de pigmeus de Camarões e de um indivíduo infectado no Gabão, enquanto o subtipo HTLV-1e de um pigmeu Efe-Mbuti, da República Democrática do Congo. O subtipo HTLV-1f foi isolado de um indivíduo do Gabão e o HTLV-1g, por sua vez, descrito como um novo subtipo na África Central.

Em relação ao HTLV-2, dados acumulados mostram que cerca de 800 mil indivíduos foram infectados mundialmente e, dessa forma, o HTLV-2 é

menos prevalente que o HTLV-1. Os Estados Unidos apresentam a maioria dos indivíduos infectados pelo HTLV-2 (400 mil a 500 mil indivíduos), sendo detectado especialmente nas populações de americanos nativos e em usuários de drogas intravenosas. Um padrão epidemiológico similar é encontrado no Brasil, segunda região com mais indivíduos infectados pelo HTLV-2 (200 mil a 250 mil indivíduos). O HTLV-2 é dividido em quatro subtipos (a, b, c e d), sendo HTLV-2a e HTLV-2b comumente encontrados nas Américas e na Europa, e o HTLV-2c e o HTLV-2d predominam no Brasil e na África Central.

No Brasil, todo sangue doado passou a ser submetido a triagem sorológica de acordo com a portaria n. 1.376, de 1993. Essa determinação permitiu o estudo da prevalência do HTLV-1 em doadores de todo o Brasil. O HTLV-1 está presente em todas as regiões brasileiras, com prevalência variável a depender do estado. Mesmo assim, pesquisas mostram que a prevalência é maior nos estados da Bahia, de Pernambuco, do Maranhão e do Pará, com índices de prevalência de até 1,35%. O HTLV-2 é prevalente, principalmente, entre as populações indígenas da Região Amazônica.

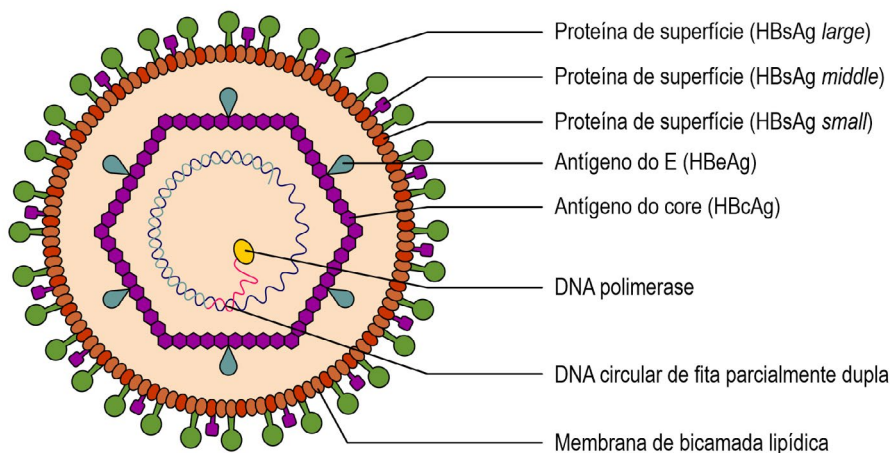
Vírus da Hepatite B

O vírus da hepatite B (HBV) pertence à família *Hepadnaviridae*. Essa família apresenta dois gêneros, o *Avihepadnavirus*, que infecta aves, e o *Orthohepadnavirus* que infecta mamíferos e inclui o HBV, que infecta o homem.

A estrutura completa do vírus mede cerca de 42 nm de diâmetro. O capsídeo icosaédrico interno tem 27 nm de diâmetro e abriga um DNA circular de fita parcialmente dupla com 3,2 kb (Figura 3). Também são produzidas partículas incompletas, com formato esférico ou tubular, medindo cerca de 22 nm de diâmetro e de comprimento variável, constituídas pelo envoltório viral e destituídas de nucleocapsídeo e ácido nucleico. Essas partículas são imunogênicas, ainda que não sejam infecciosas, e ajudam no escape do vírus à resposta do sistema imunológico do hospedeiro.

O genoma apresenta quatro fases de leitura sobrepostas, que correspondem às regiões pré-S/S, pré-C/C, P e X. O antígeno de superfície do

HBV (HBsAg) apresenta determinantes e subdeterminantes exclusivos (d/y e w/r) que levaram à identificação de oito subtipos: ayw1, ayw2, ayw3, ayw4, ayr, adw2, adw4 e adr. Em relação aos genótipos, foram identificados dez (A-J); alguns deles podem ser divididos em subgenótipos.

Figura 3 – Representação esquemática da partícula viral do HBV

Formas de transmissão

O HBV é transmitido pelo sangue e outros líquidos (ou secreções) corporais contaminados. A transmissão pode ser vertical – por via intrauterina, pré ou pós-parto –, ou horizontal – por contato sexual ou contato mucoso, definido como qualquer contato envolvendo secreção vaginal, sêmen e sangue de um paciente infectado.

Patogenia e manifestações clínicas

O HBV apresenta tropismo por células hepáticas, interferindo nas funções do fígado. No entanto, o DNA viral e as proteínas também têm sido encontrados em locais extra-hepáticos, como em linfonodos, medula óssea, baço e pâncreas.

O período de incubação dura de 30 a 180 dias. Os pacientes podem apresentar infecção assintomática ou doença sintomática aguda com risco

pequeno (<1%) de evolução para hepatite fulminante. Apenas 10% dos menores de 5 anos de idade e 30% a 50% dos maiores de 5 anos apresentam sintomas. Quando presentes, há manifestações como febre, mal-estar, fadiga, mialgia, anorexia, náuseas, além de perda de peso, dor no quadrante superior esquerdo do abdômen e hepatomegalia. A forma ictérica, vista em grande parcela dos sintomáticos, caracteriza-se pela coloração amarelada da pele, mucosa e esclerótida, podendo ser acompanhada por colúria e acolia fecal.

Urina escura causada pela presença de bilirrubina.

Fezes com aspecto esbranquiçado em razão da obstrução da excreção da bilirrubina para o intestino.

As formas fulminantes, seguidas de óbito, podem estar relacionadas à resposta imune amplificada e ocorrem em menos de 1% dos pacientes com infecção aguda pelo HBV. A maioria (>95%) dos adultos imunocompetentes infectados com HBV pode eliminar a infecção espontaneamente, enquanto cerca de 90% das crianças menores de 5 anos evoluem para a forma crônica. Os portadores do HBV são tipicamente assintomáticos e identificados normalmente em avaliações médicas ou em triagens (doadores de sangue).

A hepatite B crônica é dividida em cinco fases, não necessariamente sequenciais, conforme apresentadas no Quadro 1.

Quadro 1 – Fases da hepatite B crônica

Número	Características
1	HBeAg detectável no soro, alta carga de HBV DNA e alanina aminotransferase (ALT) persistentemente dentro do limite da normalidade, de acordo com valores de ponto de corte (valor de normalidade abaixo de 40 IU/L). No fígado, há mínima ou nenhuma necroinflamação ou fibrose, mas alto nível de HBV DNA.
2	HBeAg detectável no soro, com alto nível de HBV DNA e ALT elevada, moderada ou severa necroinflamação do fígado e progressão acelerada da fibrose
3	Anti-HBe detectável no soro, com níveis indetectáveis ou baixos (<2,000 IU/mL) de HBV DNA, valores normais de ALT (abaixo de 40 IU/L) e leve grau de fibrose, representando baixo risco de progressão para cirrose ou hepatocarcinoma.
4	Ausência de HBeAg, com detecção de anti-HBe no soro e níveis moderados ou altos de ALT persistentemente ou intermitentemente; detecta-se no fígado uma necroinflamação e fibrose.
5	Ausência de HBsAg no soro, com a presença de anti-HBc, e anticorpos para HBsAg (anti-HBs) podem estar ou não detectáveis. A fase é também conhecida como "hepatite B oculta". Nela, pacientes podem ter níveis normais de ALT e detecção do HBV DNA – cccDNA, do inglês *covalently closed circular* DNA – no fígado.

Entre os indivíduos infectados pelo HBV, 67% a 80% permanecem na fase crônica, na qual cerca de 30% terão episódios recorrentes de imunoativação e inflamação intra-hepática (doença imunoativa persistente HBeAg negativa) que requer tratamento, 4% a 20% podem se tornar positivos novamente para HBeAg (sororreversão) e 10% a 20% desenvolverão doença de imunorreativação HBeAg negativa. Em apenas 0,5% a 2% dos infectados sem tratamento é observada a soroconversão para anti-HBs, associada à melhora da sobrevida e à redução do risco de insuficiência hepática e carcinoma hepatocelular.

Diagnóstico

A avaliação dos níveis séricos das transaminases alanina e aspartato aminotransferases (ALT e AST) e das bilirrubinas consiste em exames de grande importância. Atualmente, são considerados elevados os níveis de ALT duas vezes acima do limite superior de normalidade – <40, segundo a Associação Europeia para o Estudo do Fígado (EASL, sigla em inglês para European Association for the Study of the Liver), sendo <25 para mulheres e <35 para homens –, indicando dano hepático.

Enzima que acelera reações químicas, normalmente nas células do fígado, nas quais um grupo amino é transferido de uma molécula para outra.

Aminoácido produzido pelo organismo humano e que compõe as proteínas.

Aminoácido produzido pelo organismo humano, sinônimo de ácido aspártico.

Enzima que acelera a transferência de um grupo amino de um aminoácido para um cetoácido, com formação de um novo tipo de aminoácido, deixando como resíduo um novo tipo de cetoácido.

Testes sorológicos para detecção de antígenos e anticorpos por ensaios imunoenzimáticos são comumente utilizados e testes imunocromatográficos também podem ser empregados. Os testes imunocromatográficos (ou testes rápidos) são específicos para detecção de HBsAg e utilizados em contextos emergenciais ou áreas com poucos recursos. O MS recomenda a aplicação de testes rápidos em amostras de sangue total, obtidas preferencialmente por punção digital, para avaliação inicial. Em caso de invalidação de dois testes realizados em sequência, deve ser realizada coleta de amostra de sangue por punção venosa para investigação laboratorial com ensaios imunoenzimáticos. Caso um dos testes rápidos seja válido com resultado não reagente, a amostra é considerada

Técnicas que utilizam o soro (líquido obtido por separação dos componentes do sangue mediante o processo de centrifugação) dos indivíduos como material a ser analisado, normalmente para identificação de anticorpos.

não reagente para HBsAg. Permanecendo a suspeita de infecção, deve-se coletar uma nova amostra após 30 dias e repetir o fluxograma. Se um dos testes for válido com resultado reagente, coleta-se nova amostra para investigação complementar com teste imunoenzimático ou diagnóstico que utilize teste molecular.

Técnicas de amplificação de ácido nucleico, como a PCR, são métodos sensíveis para detecção tanto qualitativa como quantitativa do DNA viral. A detecção qualitativa auxilia na determinação de infecção ativa pelo HBV, no diagnóstico precoce e na confirmação de resultados sorológicos duvidosos, e a detecção quantitativa ajuda no prognóstico e monitoramento da terapia.

No soro ou plasma são encontrados seis marcadores sorológicos: os antígenos HBs e HBe, os anticorpos HBe, HBc e HBs, além do HBV-DNA. Cada marcador sorológico tem um significado específico (Quadro 2). A interpretação da presença ou ausência dos marcadores para indicar o momento da infecção pode ser observada no Quadro 3.

Quadro 2 – Significado de cada marcador sorológico da hepatite B

Marcador	Significado
HBsAg	Primeiro marcador encontrado. Aparece três semanas antes do início dos sintomas e declina até se tornar indetectável; sua presença por mais de seis meses indica cronicidade.
HBeAg	Antígeno que indica replicação viral, independentemente da fase da doença; aparece pouco antes do início dos sintomas e indica alta infectividade.
Anti-HBc IgM	Anticorpo da classe imunoglobulina M (IgM) contra o HBcAg. Aparece no início dos sintomas e indica infecção recente; pode persistir por até seis meses.
Anti-HBc IgG	Anticorpo da classe imunoglobulina G (IgG) contra o HBcAg. Indica contato prévio com o HBV; não representa imunidade.
Anti-HBs	Anticorpo contra o HBsAg. Aparece de um a três meses após a vacinação contra o HBV ou após a recuperação de uma infecção aguda; indica imunidade.
HBV-DNA	Marcador que apresenta níveis elevados durante a fase de replicação do vírus e níveis baixos em qualquer fase da doença, inclusive na convalescência.

Capacidade de o agente infeccioso alojar-se e multiplicar-se dentro de um hospedeiro.

Quadro 3 – Interpretação dos marcadores sorológicos no diagnóstico da hepatite B

Interpretação	HBsAg	HBeAg	Anti-HBe	Anti-HBc IgM	Anti-HBc Total (IgM + IgG)	Anti-HBs
suscetível	-	-	-	-	-	-
fase de incubação	+/-	+/-	-	-	-	-
fase aguda	+	+	-	+	+/-	-
fase crônica	+	+/-	+/-	-	+	-
cura	-	-	-	-	+	+
resposta vacinal	-	-	-	-	-	+

Epidemiologia

Anualmente, ocorrem cerca de 686 mil mortes por complicações associadas à infecção crônica pelo HBV. Em 2019, a Organização Mundial da Saúde (OMS) estima que 296 milhões pessoas sejam portadoras crônicas do HBV com 1,5 milhão de novos casos a cada ano. A hepatite B causou 820 mil mortes devido a cirrose e câncer de fígado em 2019. Indivíduos com infecção crônica pelo HBV são permanentemente infecciosos e potenciais transmissores do vírus, especialmente quando assintomáticos, e podem transmitir a infecção por anos sem saber da sua situação, tendo, assim, grande relevância na transmissão da doença.

As áreas endêmicas são baseadas na porcentagem da população com positividade para o HBsAg. Quando esse índice é maior ou igual a 8%, indica área de alta endemicidade; entre 2% e 7%, área de endemicidade intermediária; e menor que 2%, áreas de baixa endemicidade. Locais com alta endemicidade normalmente apresentam transmissão pela via vertical, enquanto locais com endemicidade baixa ou intermediária apresentam transmissão horizontal, principalmente por relações sexuais ou pelo uso de drogas endovenosas.

A infecção pelo HBV varia de acordo com as regiões geográficas, sendo de maior incidência nos países subdesenvolvidos ou em desenvolvimento. No geral, quase metade da população global vive em áreas de endemicidade alta ou intermediária.

No Brasil, em um inquérito epidemiológico de base populacional, realizado entre 2004 e 2009, nas principais capitais, observou-se prevalência de 0,37% de HBsAg e 7,4% de anti-HBc. Contudo, no estudo incluíram-se apenas as capitais, e o interior do Brasil, historicamente, apresenta índices bastante heterogêneos.

De acordo com o Sistema de Informação de Agravos de Notificação (Sinan), no período de 2000 a 2021, foram notificados 264.640 casos de hepatite B no Brasil, dos quais a maioria está concentrada na região Sudeste (163.542). Com relação ao número de óbitos, entre 2000 a 2021 foram registradas 17.540 mortes relacionadas às hepatites; dessas, 53,4% tiveram o HBV como causa básica, em sua maior parte (40,6%) na região Sudeste. No entanto, a região Norte foi a que apresentou os maiores coeficientes de mortalidade em todo o período, sendo de 0,4 óbito por 100 mil habitantes em 2020.

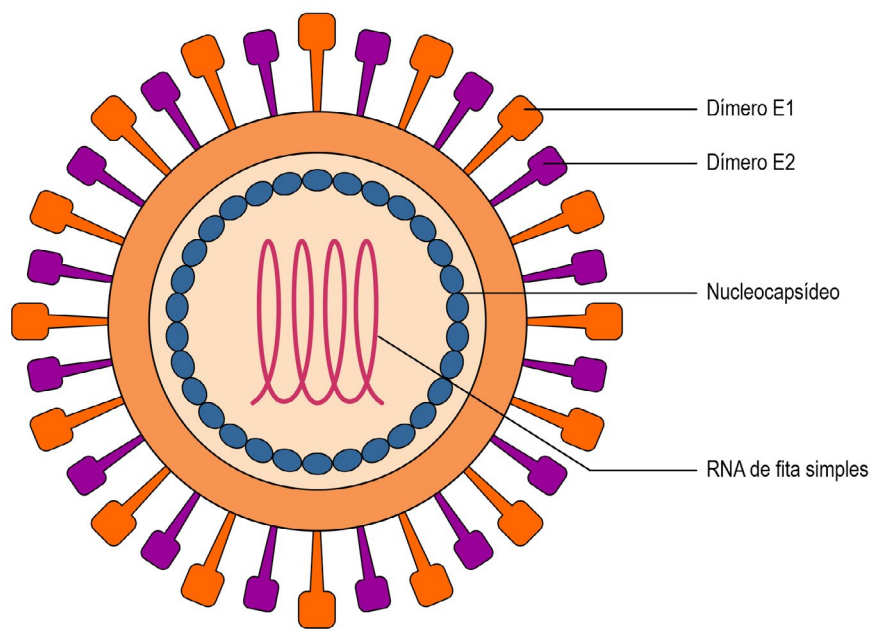
A distribuição geográfica dos genótipos virais conhecidos é variável, sendo o genótipo A o mais encontrado na América do Norte, no norte da Europa, na Índia e na África Subsaariana; os genótipos B e C na Ásia e Oceania; o genótipo D no sul da Europa, na África, no Oriente Médio e na Índia; o genótipo E no oeste da África e no sul da África; o genótipo F na América Central e na América Latina; o genótipo G nos Estados Unidos e na Europa; e o genótipo H identificado na América Central e na Califórnia.

No Brasil, em um estudo multicêntrico em âmbito nacional observaram-se sete genótipos de HBV circulando no país, com maior prevalência do genótipo A, seguido do D, F, E, G, C e B, com diferenças de prevalência entre as regiões. A prevalência da hepatite B, nacionalmente, vem caindo ao longo dos anos e a doença tem sido observada em faixas etárias mais avançadas. Em indivíduos acima de 59 anos, não se observa queda na prevalência e a via sexual é a principal forma de transmissão. Um dos fatores relacionados seria a baixíssima cobertura vacinal nas pessoas da faixa etária acima de 60 anos.

Vírus da Hepatite C

Até o fim da Segunda Guerra Mundial, haviam sido descobertos apenas dois tipos de hepatites virais, com diferentes meios de transmissão (parenteral e entérico). Os agentes etiológicos das hepatites A e B foram identificados no início da década de 1970 e, com o desenvolvimento de testes sorológicos sensíveis a esses agentes, foi possível observar que muitos casos de hepatite pós-transfusional não eram atribuíveis à infecção pelo vírus da hepatite A (HAV) nem pelo vírus da hepatite B (HBV). Dessa forma, foi descrita pela primeira vez uma nova hepatite pós-transfusional (HPT), chamada inicialmente de hepatite não A não B (HNANB).

O vírus da hepatite C (HCV) – como passou a ser denominada – é um vírus envelopado com diâmetro estimado de 70 nm que possui estrutura genômica composta por uma fita simples de RNA de polaridade positiva e com aproximadamente 9,4 kb (Figura 4). Através de comparações filogenéticas das sequências virais, o HCV foi classificado dentro do gênero *Hepacivirus*, na família *Flaviviridae*. Os vírions podem circular na corrente sanguínea complexados às lipoproteínas de baixa densidade ou às imunoglobulinas, ou como partículas livres. O HCV tem uma relação restrita de hospedeiros, sendo apenas o homem e o chimpanzé suscetíveis à infecção natural. A replicação do HCV é muito propensa a erros e gera mutações em uma taxa de aproximadamente 10^{-5} substituições nucleotídicas por replicação. Em virtude dessa alta taxa de mutação, existe uma elevada diversidade viral; por conseguinte, propôs-se uma classificação do HCV em genótipos e subtipos determinados por análises filogenéticas e sequenciamento. O HCV apresenta oito genótipos com homologia (similaridade) de 65,7% a 68,9% entre seus genomas, e noventa subtipos com homologia de 76,9% a 80,1%, também entre seus genomas.

Figura 4 – Representação esquemática da partícula da partícula viral do HCV

Formas de transmissão

O HCV é transmitido pela via parenteral através do contato principalmente com sangue contaminado. A grande maioria das infecções pelo HCV está associada à utilização de drogas injetáveis e, por isso, a prevenção desse comportamento de risco representa uma medida viável para eliminar grande parte das infecções. Outras formas de infecção pelo HCV incluem: procedimentos médicos (cirurgias e/ou utilização de materiais não estéreis) e exposição nosocomial, transfusão de sangue e plasma, transplante de órgãos, exposição ocupacional (acidentes com material contaminado, tal como agulhas), transmissão vertical e sexual.

Patogenia e manifestações clínicas

Após infecção do hospedeiro suscetível, o HCV penetra na corrente sanguínea e segue para o fígado – órgão pelo qual apresenta tropismo –, passando por diversos tecidos como pâncreas, tireoide, glândulas adrenais,

baço e medula óssea. O fígado é o principal local de replicação do HCV; porém, a infecção em sítios extra-hepáticos pode ocorrer e favorece o aparecimento de variantes virais, diminuindo seu reconhecimento pelo sistema imune do indivíduo. A progressão da fibrose hepática na hepatite C crônica foi associada à diversidade genética do HCV, sendo o genótipo 1b associado a maior risco de cirrose e hepatocarcinoma do que os genótipos 2 e 3. A produção de novos vírus é contrabalançada com a destruição das células infectadas – por apoptose ou outras formas de morte celular programada no tecido –, ou com a degradação no sangue periférico, já que a meia-vida do vírus no sangue é de cerca de 2,7 horas.

A hepatite C pode ser classificada clinicamente em forma aguda ou crônica. É estabelecido que a forma aguda equivale à presença de sinais clínicos ou sintomas da hepatite C até seis meses após o evento de exposição ao HCV. Entretanto, a forma aguda é observada em apenas 20% a 30% dos indivíduos infectados. Apenas 5% dos indivíduos portadores são sintomáticos; nos demais infectados, há manifestação subclínica ou assintomática, sendo esse um dos maiores problemas de saúde pública, em razão da transmissão pelo desconhecimento do status sorológico. Em somente 20% dos casos ocorre a resolução espontânea da viremia, ou seja, a cura. A maioria desses casos de sucesso ocorre em indivíduos jovens, do gênero feminino, caucasianos e com baixa viremia. Clinicamente, a hepatite causada pelo HCV é semelhante às hepatites ocasionadas por outros vírus. O paciente pode apresentar icterícia, fadiga, anorexia, náusea e outros sintomas inespecíficos.

Entre os indivíduos com infecção aguda não resolvida, 70% a 80% evoluem para a forma crônica, na qual o vírus se replica persistentemente; é possível, assim, detectar o RNA viral no soro ou tecido hepático. Com o estabelecimento da infecção crônica, não ocorre resolução espontânea da viremia. Dos indivíduos cronicamente infectados, em torno de 15% a 20% desenvolvem cirrose num período de 10 a 30 anos e, por ano, 1% a 5% desses têm chances de desenvolver hepatocarcinoma (HCC).

Diagnóstico

O diagnóstico da infecção pelo HCV é realizado por testes de detecção de anticorpos, de antígenos e do genoma viral em amostras de soro ou plasma. Os testes de detecção de anticorpos são utilizados para triagem sorológica – apropriados para rastreamento em populações de risco e recomendados como teste inicial para pacientes com hepatopatia. Para a detecção de anticorpos anti-HCV no plasma ou soro, são utilizados ensaios imunoenzimáticos de terceira geração, que detectam anticorpos contra vários epítopos do HCV e apresentam especificidade superior a 99%. Um dos problemas dessa técnica é a possibilidade de resultados falsos negativos, dado o período de janela imunológica necessário para o surgimento de anticorpos que podem, em muitos casos, ser detectados somente depois de seis meses de infecção. Testes com capacidade para detecção simultânea de antígeno e anticorpo já foram desenvolvidos e reduzem o intervalo de janela para detecção. Somado aos ensaios imunoenzimáticos convencionais, o ensaio *immunoblot* recombinante (Riba) é utilizado como teste suplementar; ele tem como fundamento a detecção de anticorpos anti-HCV específicos para determinadas proteínas virais que estão fixadas em membranas de nitrocelulose.

Período entre a infecção da pessoa por um determinado patógeno e a produção de anticorpos em quantidade suficiente para que possam ser detectados por testes laboratoriais.

Ensaio imunológico em fase sólida (membranas) utilizado para detecção de anticorpos.

Para a detecção do HCV-RNA, testes qualitativos e quantitativos podem ser empregados. Esses testes têm como fundamento a amplificação, através de métodos de biologia molecular, de regiões específicas do genoma do vírus. Os testes quantitativos moleculares devem apresentar elevada sensibilidade para determinação da carga viral presente no soro de pacientes infectados antes e durante o tratamento antiviral, ao passo que os qualitativos devem ser mais sensíveis antes e depois do tratamento antiviral, para avaliar a eficácia da terapia.

Além dos testes convencionais, é também aconselhável a avaliação do genótipo e subtipo viral, geralmente por método de sequenciamento nucleotídico. Tem-se o intuito de definir e avaliar o tratamento, uma vez que algumas mutações primárias são associadas à resistência antiviral.

Epidemiologia

A estimativa da prevalência da hepatite C é dada por estudos de soroprevalência realizados em doadores de sangue, usuários de drogas e pacientes submetidos à hemodiálise. No entanto, por tratar-se de uma população com características específicas, esses estudos podem não representar a prevalência real da infecção pelo HCV. Apesar de análises populacionais com amostras representativas de múltiplas comunidades serem mais adequadas, investigações desse tipo significam maior complexidade e custo elevado, não podendo ser executadas na maior parte do mundo. Mesmo com essas ponderações, as estimativas do ano de 2022 da OMS apontam que 58 milhões de pessoas em todo o mundo vivem com hepatite C crônica e a maioria não tem acesso aos testes e tratamentos. Entre esses indivíduos, o risco de desenvolver cirrose hepática e/ou câncer de fígado é alto. A cada ano, aproximadamente 290 mil pessoas morrem de doenças hepáticas relacionadas com a hepatite C no mundo.

Embora o HCV tenha distribuição mundial e ainda seja um grave problema de saúde pública, após o início do tratamento com os antivirais de ação direta (DAAs) o número de infecções crônicas caiu significativamente nos últimos anos. Caminha-se em uma perspectiva de controle da epidemia da hepatite C no mundo, após o aumento no acesso a testes e tratamento para todos. Existe um elevado grau de variação geográfica da prevalência do HCV. As áreas mais afetadas são a região do Mediterrâneo Oriental e a Europa, com uma prevalência estimada, em 2015, de 2,3% e 1,5%, respectivamente. Em outras regiões, varia de 0,5% a 1,0%.

Dependendo do país, a infecção pelo HCV pode estar concentrada em certas populações, como as de usuários de drogas injetáveis e a carcerária. Por exemplo, 23% das novas infecções por HCV e 33% da mortalidade por HCV são atribuídas ao uso dessas drogas. Indivíduos que utilizam drogas injetáveis e a população carcerária, contudo, geralmente não são incluídos nos dados estatísticos, em razão da dificuldade de acesso a esses grupos para as pesquisas. De acordo com a OMS, nos países onde as práticas de controle são insuficientes, a infecção pelo HCV é amplamente distribuída na população em geral. Além disso, a distribuição dos vários

genótipos do HCV varia conforme a região do mundo, permanecendo ainda desconhecida em muitos países.

No Brasil, de acordo com o Boletim Epidemiológico de 2022, durante o período de 2000 a 2021 foram notificados 279.872 casos de infecção por HCV; desses, 58,4% encontram-se na região Sudeste. É importante levar em consideração a subnotificação em outras regiões do Brasil, como o Norte e o Nordeste, pois, por ser um país de dimensões continentais e com grandes variações demográficas, sociais e culturais entre as diferentes regiões, os estudos de prevalência são poucos e imprecisos, englobando populações específicas. Diversas pesquisas trazem informações contraditórias, o que sugere a necessidade de análises com metodologia mais adequada. Entre as hepatites virais, a que causa mais mortes é a hepatite C.

Segundo o inquérito realizado pela Sociedade Brasileira de Hepatologia (SBH), em 2011, dos 1.173.406 doadores de sangue avaliados, 14.527 (1,23%) foram reativos para o anti-HCV; foi constatado, ainda, que a distribuição da prevalência de anti-HCV no Brasil é bastante heterogênea. Os valores mais elevados de prevalência apareceram nos Estados da região Norte (2,12%). A região Sul, por sua vez, mostrou baixa prevalência de anti-HCV (0,65%), e as regiões Centro-Oeste, Nordeste e Sudeste apresentaram taxas intermediárias (1,04%, 1,19% e 1,43%, respectivamente). No entanto, essas taxas ainda podem variar entre os estados de uma mesma região geográfica. Em estudo de base populacional realizado com 1.049 moradores de São Paulo, a prevalência de anti-HCV foi de 1,42%. Os maiores valores foram observados nos indivíduos acima de 30 anos, com pico de 3,8% na faixa etária entre 50 e 59 anos.

Papilomavírus Humano

A família *Papillomaviridae* inclui mais de duzentos tipos de papilomavírus humano (HPV) que infectam o epitélio cutâneo e/ou mucoso de uma ampla variedade de sítios anatômicos, incluindo a pele e os tratos anogenital e respiratório superior. A família *Papillomaviridae* é dividida em duas subfamílias: *Firstpapillomavirinae,* cujos gêneros que infectam os

humanos são cinco – *Alphapapillomavirus* (Alpha-PV), *Betapapillomavirus* (Beta-PV), *Gammapapillomavirus* (Gamma-PV), *Mupapillomavirus* (Mu-PV) e *Nupapillomavirus* (Nu-PV) – e *Secondpapillomavirinae*, com apenas um gênero. A partícula do HPV é pequena, com cerca de 55 nm de diâmetro, não envelopada, e apresenta um genoma DNA de fita dupla circular, o qual é envolvido por um capsídeo composto de 72 capsômeros. Como a propagação *in vitro* do HPV é bastante difícil, sua classificação é baseada na homologia de DNA. Considera-se como novo tipo aquele que apresenta menos de 50% de homologia com as sequências descritas anteriormente; logo, os HPV são classificados quanto a seu genótipo.

Estruturas proteicas que se encaixam e compõe o capsídeo viral, formando uma cápsula protetora ao redor do material genético do vírus.

Os diferentes tipos de HPV estão divididos em dois grupos, de acordo com o potencial de oncogenicidade. Os denominados de baixo risco (tipos 6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 70, 72, 81) estão relacionados a lesões benignas e lesões intraepiteliais de baixo grau (LSIL, do inglês *low-grade intraepithelial lesion*). No outro extremo, aqueles considerados de alto risco (tipos 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 73, 82) são responsáveis por lesões intraepiteliais de alto grau (HSIL, do inglês *high-grade cervical intraepithelial lesion*) e carcinomas.

Formas de transmissão

As infecções mucosas por HPV estão entre as ISTs mais comuns e podem ocorrer por via oral-genital, genital-genital ou mesmo manual-genital, através do contato direto com a mucosa ou pele infectada durante o ato sexual. Para que ocorra a transmissão, a pessoa infectada não precisa, necessariamente, apresentar sintomas; porém, a presença de verrugas ou lesões visíveis potencializa o risco. O uso de preservativos durante a relação sexual não impede de forma efetiva a transmissão do HPV; no entanto, é muito indicado para reduzir as chances de transmissão dessa e de outras ISTs. Em gestantes infectadas pelo HPV, a via mais provável para transmissão vertical é durante a passagem do bebê pelo canal vaginal. A cesárea deve, portanto, ser recomendada para essas gestantes.

Alguns autores consideram que a infecção pelo HPV é a IST mais prevalente no homem. A grande maioria dos casos de infecção genital pelo HPV

em ambos os sexos se mostra subclínica ou latente; para o seu diagnóstico, são necessários exames como a peniscopia, que permite evidenciar lesões suspeitas e possibilita a coleta de material para estudo histológico e de biologia molecular. Apesar dos esforços para diagnosticar e tratar o HPV no homem, a população desconhece a importância de muitos procedimentos.

Patogenia e manifestações clínicas

O papilomavírus é responsável por 99% dos casos de câncer do colo uterino. Esse vírus é capaz de acelerar a velocidade da proliferação celular, aumentando a chance de desenvolvimento de atipias, que são alterações anormais e irregulares nos núcleos celulares. Após a exposição, o vírus coloniza todo o epitélio do trato genital inferior. As manifestações clínicas podem variar de indivíduo para indivíduo e são reguladas pela resposta imunológica local ou sistêmica do hospedeiro. A gravidade de tais manifestações também é influenciada por cofatores como tabagismo, uso de contraceptivos orais, imunodeficiência por carência nutricional e gestação. A associação HPV-HIV ocorre com certa frequência e é caracterizada por uma recidiva quase constante das lesões, em virtude da qual se destaca maior necessidade de vigilância nas pessoas vivendo com HIV/aids.

O HPV pode se manifestar de três formas: a clínica, com predominância de lesões vegetantes-exofíticas observadas a olho nu e que podem ser encontradas em várias partes do corpo, incluindo regiões genitais e outras cavidades; a subclínica, com ocorrência de lesões observáveis mediante uso de ácido acético a 3% e auxílio de instrumentos óticos, como colposcópio ou lupas; e a latente, sem manifestações clinicas, mas diagnosticável mediante detecção do DNA viral (PCR) ou de alterações celulares mínimas, insuficientes para causar desestruturação tecidual (detectada por hibridização *in situ*).

Nas infecções causadas pelo HPV, sejam elas de caráter maligno ou não, verificam-se eventos em comum. Inicialmente, a infecção viral é produtiva, mesmo que regrida espontaneamente na maioria das pacientes. Em contrapartida, quando o HPV se integra ao material genético do hospedeiro, as lesões produzidas parecem ter um índice extremamente baixo de remissão espontânea.

O processo de infecção pelo papilomavírus inicia-se com a inoculação do vírus no hospedeiro. Após a inoculação, o HPV pode penetrar até a camada basal da epiderme e infectar células epiteliais. Ao entrar na célula, seu genoma é transportado ao núcleo da célula infectada, sítio de transcrição do DNA para a produção de RNA a ser traduzido em proteínas virais específicas. Dependendo das condições clínicas do indivíduo e das características da infecção, essa colonização resulta numa expressão viral ativa ou permanece na forma latente. No colo do útero, os processos proliferativos podem ter agravamento crescente, com surgimento de atipias nucleares e perda da capacidade de diferenciação das células epiteliais.

Embora a infecção geralmente ocorra de forma subclínica, os papilomavírus têm como manifestação clínica mais característica o surgimento de verrugas. A natureza dessas lesões pode ajudar a caracterizá-las como manifestações causadas pelos vírus que infectam a pele (verruga plantar, plana e epidermodisplasia verruciforme) e vírus que infectam principalmente as mucosas (papilomatose respiratória, papiloma oral, papiloma conjuntival e verrugas anogenitais – conhecidas também como condiloma acuminado).

Diagnóstico

O diagnóstico da infecção por HPV leva em conta dados clínicos, exame físico e exames complementares, com a pesquisa direta ou indireta do vírus, por meio das alterações provocadas pela infecção nas células e nos tecidos. Entre as técnicas utilizadas para o diagnóstico, recomenda-se colposcopia, citopatologia (exame de Papanicolau) e histopatologia – metodologias de diagnóstico inespecífico –, ou microscopia eletrônica, imunocitoquímica e testes para detecção do DNA do vírus – como métodos de diagnóstico específico.

Epidemiologia

As infecções causadas pelo HPV vêm sendo um problema de saúde pública crescente devido à elevada frequência, à associação com o câncer e às implicações clínicas. O papilomavírus causa a IST mais frequente em todo o mundo e acomete cerca de 30% da população sexualmente ativa,

sendo mais comum em indivíduos com idade entre 18 e 28 anos. Calcula-se que cerca de 50% dos indivíduos sexualmente ativos entrarão em contato com o HPV em algum momento de suas vidas e que 80% das mulheres terão esse contato até os 50 anos de idade.

Nos Estados Unidos, em dados de 2014 indicou-se uma prevalência de 42,5% do HPV genital na população com idade entre 18 e 59 anos. A prevalência de formas de alto risco foi de 22,7%. Estima-se que a prevalência de indivíduos com manifestação clínica da infecção por HPV seja de 1% entre os adultos sexualmente ativos e que, no mínimo, 15% da população tenha infecção subclínica, demonstrada pela detecção do DNA do HPV. Em 2009, nos continentes africano, americano, europeu e asiático, a prevalência da infecção, de acordo com estudos de meta-análise em mulheres com citologia normal, foi, respectivamente, de 22,12%, 12,95%, 8,08% e 7,95%.

De acordo com a OMS, o HPV é o principal responsável pelo câncer do colo do útero que afeta quase 600 mil mulheres a cada ano em todo mundo e leva metade delas a óbito em decorrência da doença. É importante destacar o aumento crescente da relação entre HPV e o câncer de boca, língua e orofaringe. O vírus também pode estar ligado a cânceres menos comuns, como anal, peniano, vaginal e vulvar, com o tipo anal apresentando aumento nos últimos 30 anos.

No Brasil, de acordo com informações do Observatório Global do Câncer, da OMS, em 2018 o câncer do colo do útero foi a quarta neoplasia maligna mais comum e a quarta causa de morte por câncer entre as mulheres. Dados do estudo POP Brasil, que avaliou a prevalência de HPV no Brasil até 2017, demonstraram prevalência de 53,6% para o HPV, na população geral, e de 54,6% entre mulheres, sendo o HPV de alto risco encontrado em 35% das mais de seis mil amostras genotipadas; em relação aos homens, a prevalência foi de 51,8%.

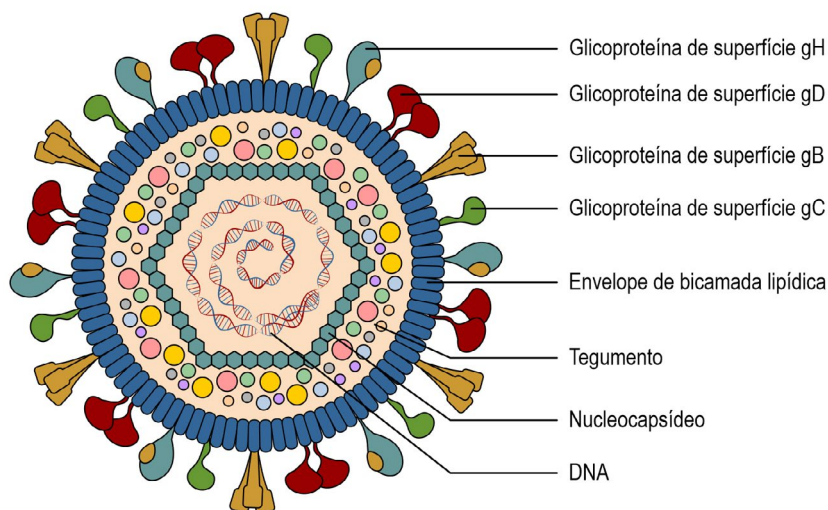
Na maioria dos casos, o contágio ocorre através do contato sexual, visto que taxas de risco de aquisição do HPV variam entre 60% e 80% através de um único contato sexual. Os tipos virais 16 e 18 são os mais encontrados nos casos de câncer e a infecção por eles é comum na população sexualmente ativa, podendo causar neoplasia benigna e maligna no trato genital.

Como principais fatores de risco para contrair a infecção, constam: início da atividade sexual precoce, grande número de parceiros sexuais, estado civil e escolaridade.

A vacina contra o HPV foi incluída no Programa Nacional de Imunizações (PNI) do Sistema Único de Saúde (SUS). Ela está disponível para meninas entre 9 e 14 anos e meninos entre 11 e 14 anos.

Herpesvírus

A família *Herpesviridae* conta com mais de duzentos tipos diferentes de herpesvírus; desses, nove são causadores de doença em humanos (HSV-1, HSV-2, VZV, EBV, CMV, HHV-6A, HHV-6B, HHV-7 e HHV-8). Os herpesvírus são classificados em subfamílias (alfa-, beta- e gama--herpesvírus), de acordo com suas propriedades biológicas e patogênicas. Entre os herpesvírus que causam doença em humanos, com transmissão sexual, podemos citar o *Alphaherpesvirus* humano tipo 1, conhecido como Herpes 1 (HSV-1), e o *Alphaherpesvirus* humano tipo 2, conhecido como Herpes 2 (HSV-2), ambos classificados na subfamília *Alphaherpesvivirinae* e no gênero *Simplexvirus.* A partícula viral dos herpesvírus é bem complexa, apresentando diâmetro aproximado de 150 nm a 200 nm, envelope lipídico, capsídeo icosaédrico formado por 162 capsômeros e DNA de fita dupla linear de 150 kb a 153 kb (Figura 5). Morfologicamente, os herpesvírus apresentam uma camada amorfa nomeada tegumento, entre o capsídeo e o envelope, constituída de importantes proteínas da regulação do ciclo replicativo. Devido à enorme diversidade de vírus dessa família, são enfatizados, aqui, apenas aqueles associados com transmissão sexual: o HSV-1 e o HSV-2.

Figura 5 – Representação esquemática da partícula viral do HSV

Formas de transmissão

A transmissão do HSV-1 e 2 geralmente ocorre por meio do contato direto com pele, mucosas bucal ou genital, saliva, sêmen, secreções cervicais ou líquido das vesículas provocadas pelo vírus. Ocorre, principalmente, através de relação sexual de um hospedeiro suscetível com um indivíduo que apresenta infecção ativa desses herpesvírus. A não utilização do preservativo favorece a transmissão viral, pois estima-se que 90% dos infectados não estão cientes de sua infecção. Durante o período de latência, o vírus não é transmitido, porém a reativação da replicação pode acontecer de forma assintomática, o que amplia a chance de disseminação desses vírus.

Patologia e manifestações clínicas

Os HSV-1 e 2 podem infectar diferentes tipos de células, tais como células do epitélio escamoso e mucoso, fibroblastos, células polarizadas do epitélio cilíndrico, células da glia, monócitos, macrófagos e terminações nervosas. Os herpesvírus podem produzir uma infecção lítica ou latente. Na infecção lítica, o vírus se prolifera e produz lise na célula hospedeira;

Processo de introdução e replicação do vírus na célula hospedeira, gerando novas partículas virais e ocasionando a morte da célula por lise.

Ruptura da membrana plasmática da célula.

Molécula extracromossômica de DNA viral dupla fita, geralmente de formato circular, presente no citoplasma de células infectadas.

nesse estágio, há detecção do DNA circulante. Na latente, o DNA viral do HSV-1 migra para o gânglio trigeminal e o do HSV-2 para o gânglio sacral, onde são circularizados na forma de epissoma, pela ação de enzimas de reparo de DNA celular.

A replicação do herpesvírus ocorre no núcleo da célula hospedeira. A transcrição do genoma viral e a síntese de proteínas ocorrem de maneira coordenada e regulada, em três fases ou estágios: proteínas precoces imediatas (alfa), proteínas precoces (beta) e proteínas tardias (gama).

Os sinais e sintomas dos HSV-1 e 2 podem desenvolver-se dentro dos diferentes estágios infecciosos. Na infecção primária, que é caracterizada como o primeiro contato do vírus com o hospedeiro, ocorre extensa excreção viral, com manifestação ou não de sintomas. Esse estágio é o mais severo, devido principalmente à baixa de imunidade protetora do hospedeiro (reduzida detecção de anticorpos). No estágio de latência, o genoma viral persiste nos sítios de latência, apesar de não haver excreção viral, sinais e sintomas. A reativação, caracterizada como o retorno à replicação viral, pode ocorrer com ou sem sintomas. Na recorrência, em que o indivíduo infectado tem mais de um caso de reativação, há sintomas. Casos recorrentes são causados, geralmente, por estímulos como estresse, variações hormonais, exposição à luz ultravioleta e imunossupressão.

Diversas doenças podem ser causadas pelos alfaherpesvírus. O HSV-1 pode causar encefalite, ceratoconjuntivite, infecções orais – gengivoestomatite e amigdalite labial –, faringite, esofagite, traqueobronquite, paroníquia e infecção genital. O HSV-2 pode ocasionar encefalite, faringite, paroníquia, infecção genital ou perianal, podendo ser também transmitido verticalmente e causar o herpes neonatal. Quanto aos aspectos clínicos, algumas das principais complicações geradas pelos herpesvírus são a encefalite herpética (EHS), a ceratite herpética e o herpes neonatal.

A EHS é uma patologia grave, com alto índice de morbidade e até 70% de mortalidade. Os pacientes que se recuperam permanecem com sintomas neurológicos persistentes. A doença expressa-se por um quadro clínico agudo, tendo como principais manifestações febre, cefaleia, alterações cognitivas e psíquicas. Aproximadamente 90% dos casos de EHS

em adultos e crianças são causados pelo HSV-1, enquanto em neonatos o HSV-2 é o responsável. Na EHS, o vírus atinge o sistema nervoso central (SNC) e há replicação em algumas localidades do cérebro, causando alterações neurológicas severas, muitas vezes irreversíveis.

A patogênese dessa doença ainda não é totalmente esclarecida, mas acredita-se que a principal origem seja a reativação da infecção latente pelo HSV-1, que atinge o SNC, comprometendo principalmente o córtex dos lobos frontal e temporal. Outra gênese, menos comum, seria o acometimento do SNC pelo HSV-1 logo na primoinfecção, atingindo principalmente o lobo temporal e estruturas do sistema límbico, através da mucosa nasal e do bulbo olfatório. Perto de 70% dos casos graves de herpesvírus, principalmente de encefalite herpética, refletem a dificuldade ou a falta do diagnóstico adequado e, consequentemente, do tratamento.

A ceratite herpética ocorre quando há replicação viral na córnea; recorrências muito próximas podem levar a uma lesão de córnea. As hipóteses mais aceitas para a ocorrência desse quadro consistem na chegada do vírus à córnea através do manuseio de uma vesícula facial, ou quando o vírus sai da latência, podendo atingir a fossa nasal e iniciar a replicação naquela região. Essa doença inicia-se na pálpebra, na forma de pequenas vesículas que, por volta de duas semanas depois, secam e criam crostas na conjuntiva e na córnea. Os casos mais graves possivelmente provocam uma inflamação recorrente e a formação de úlceras e de cicatrizes, eventualmente levando à perda progressiva da visão se a doença não for tratada a tempo com antivirais. Os sintomas mais comuns são olho vermelho e lacrimejante, dor ocular, visão turva, ardência e fotofobia.

O herpes neonatal atinge 1 a cada 2.500-5.000 recém-nascidos. O HSV-2 é responsável por 70% a 75% dos casos, e o HSV-1 é responsável por 25% a 30%. As manifestações podem ocorrer do nascimento até a sétima semana de vida da criança; nesse período, observa-se acometimento sobretudo da pele, dos olhos, da boca e do couro cabeludo, dada a aquisição congênita durante o processo de nascimento ou no período pós-parto. É sabido que 60% a 70% dos casos não tratados evoluem para a doença no SNC, com possível encefalite. O risco de transmissão materna

está associado à carga viral, sendo expressivamente maior em gestantes que apresentam infecção primária pelo vírus próximo ao período do parto. Portanto, recomenda-se que seja feita a cesariana, para reduzir o risco de infecção do neonato.

Diagnóstico

Atualmente, o diagnóstico da infecção por HSV-1 e HSV-2 pode ser realizado por métodos sorológicos ou moleculares. A detecção de IgM anti-HSV indica infecção aguda, e o IgG anti-HSV aponta que o indivíduo já teve contato com o vírus. Na família *Herpesviridae*, a presença de IgG não significa eliminação viral, pois o vírus, após a infecção, fica em estágio de latência.

O diagnóstico molecular revolucionou o estudo dos herpesvírus. A detecção viral é feita por PCR ou qPCR, uma metodologia bastante sensível (>95%) que pode ser aplicada em soro, saliva ou amostras obtidas de vesículas de pacientes sintomáticos. A detecção de herpesvírus por meio dessas metodologias é util para diagnóstico, acompanhamento individual, resistência do vírus e sua classificação como genótipo de maneira ágil e precisa.

Epidemiologia

Estima-se que 85% da população mundial já tenha tido contato com algum dos alfaherpesvírus. De modo geral, as prevalências variam segundo região, país (desenvolvido ou em desenvolvimento) e hábitos de higiene. Em estudos realizados no continente africano indica-se que a soroprevalência dos herpesvírus é observada em cerca de 95% da população. No Brasil, 65% dos adultos acima de 40 anos têm história de infecção pelo HSV-1.

O HSV-1 apresenta distribuição mundial, pois os vírus presentes nas lesões são facilmente transmitidos. Nos países em desenvolvimento, a soroconversão ocorre na primeira infância, e, nos países desenvolvidos, geralmente na adolescência. Em torno de um terço das crianças em áreas pobres e um quinto das crianças em áreas com melhores condições são

infectadas até os 5 anos de idade. Até os 30 anos, calcula-se que 60% da população apresenta anticorpos anti-HSV-1 (IgG).

O HSV-2 também expressa distribuição mundial. A soroprevalência e as taxas de infecção mostram-se consistentemente mais altas entre as mulheres do que entre os homens; entretanto, a frequência de disseminação viral em homens com herpes genital parece comparável à das mulheres. As diferenças na suscetibilidade relacionadas às distinções anatômicas têm maior probabilidade de desempenhar um papel na transmissão do que as taxas de reativação.

As infecções neonatais por HSV-1 ou 2 em todo o mundo costumam estar relacionadas à ausência de histórico de infecção prévia e de acompanhamento pré-natal. Mães com históricos de recidiva têm 5% de chance de contaminar o feto, sendo recomendada a cesárea nesses casos.

Bibliografia
Consultada/Sugerida

HIV

APPAY, V. & SAUCE, D. Immune activation and inflammation in HIV-1 infection: causes and consequences. *Journal of Pathology*, 214(2): 231-241, 2008.

ASCHER, M. S. & SHEPPARD, H. W. Aids as immune system activation: a model for pathogenesis. *Clinical and Experimental Immunology*, 73(2): 165-167, 1988.

AZEVEDO-PEREIRA, J. M. & SANTOS-COSTA, Q. Os receptores das quimiocinas e a sua importância no ciclo replicativo do vírus da Imunodeficiência Humana: implicações clínicas e terapêuticas. *Acta Médica Portuguesa*, 21(5): 497-504, 2008.

BIENZLE, D. *et al*. Persistently HIV-1 seronegative Nairobi sex workers are susceptible to in vitro infection. *Canadian Journal of Infectious Diseases*, 11(5): 259-263, 2000.

BRASIL. Ministério da Saúde - Secretaria de Vigilância em Saúde. Boletim Epidemiológico – HIV/AIDS. Número especial. Dezembro de 2022. Disponível em: <https://www.gov.br/aids/pt-br/centrais-de-conteudo/boletins-epidemiologicos/2022/hiv-aids/boletim_hiv_aids_-2022_internet_31-01-23.pdf/view>. Acesso em: 7 maio 2023.

BRASIL. Ministério da Saúde. Boletim Epidemiológico HIV/Aids, 2019. Disponível em <http://antigo.aids.gov.br/pt-br/pub/2019/boletim-epidemiologico-de-hivaids-2019>.

BRASIL. Ministério da Saúde. *Manual Técnico para o Diagnóstico da Infecção pelo HIV em Adultos e Crianças*. Brasília: Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância, Prevenção e Controle das Infecções Sexualmente Transmissíveis, do HIV/Aids e das Hepatites Virais, 2016.

COFFIN, J. M. *et al*. Human immunodeficiency viruses. *Science*, 232(4751): 697-697, 1986.

CRAIGIE, R. The molecular biology of HIV integrase. *Future Virology*, 7(7): 679-686, 2012.

D'ARC, M. *et al*. Origin of the HIV-1 group O epidemic in western lowland gorillas. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 112(11): E1343-E1352, 2015.

DOBROWSKY, T. M. *et al*. Adhesion and fusion efficiencies of human immunodeficiency virus type 1(HIV-1) surface proteins. *Scientific Reports*, 3(3014), 2013.

FANALES-BELASIO, E. *et al*. HIVvirology and pathogenetic mechanisms of infection: a brief overview. *Annali dell'Istituto Superiori di Sanità*, 46(1): 5-14, 2010.

FARQUHAR, C. *et al*. Human Leukocyte Antigen (HLA) B*18 and protection against mother-to-child HIV type 1 transmission. *Aids Research and Human Retroviruses*, 20(7): 692-697, 2004.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION (FDA). 2023. Antiretroviral drugs used in the treatment of HIV infection. Disponível em: <https://hivinfo.nih.gov/understanding-hiv/fact-sheets/fda-approved-hiv-medicines>.

FENIZIA, C. *et al*. Genetic and immune determinants of immune activation in HIV-exposed seronegative individuals and their role in protection against HIV infection. *Infection, Genetics and Evolution*, 66: 325-334, 2018.

FREED, E. O. HIV-1 replication. *Somatic Cell and Molecular Genetics*, 26(1): 13-33, 2002.

GAO, X. *et al*. Effect of a single amino acid change in MHC class I molecules on the rate of progression to Aids. *New England Journal of Medicine*, 344(22): 1.668-1.675, 2011.

GRÄF, T. *et al*. HIV-1 molecular diversity in Brazil unveiled by 10 years of sampling by the national genotyping network. *Sci Rep*. 11(1): 15842, 2021.

GROTTO, R. M. T. & PARDINI, M. I. M. C. Biologia molecular do HIV-1 e genética da resistência humana à Aids. *Arquivos da Ciência da Saúde*, 13(3): 61-64, 2006.

HEMELAAR, J.; ELANGOVAN, R. & YUN, J. Global and regional molecular epidemiology of HIV-1, 1990-2015: a systematic review, global survey, and trend analysis. *The Lancet Infectious Disease*, 19(2):143-155, 2019.

HEMELAAR, J. The origin and diversity of the HIV-1 pandemic. *Trends in Molecular Medicine*, 18(3): 182-192, 2012.

HENDEL, H. *et al.* New class I and II HLA alleles strongly associated with opposite patterns of progression to AIDS. *Journal of Immunology*, 162(11): 6.942-6.946, 1999.

INTERNATIONAL COMMITTEE ON TAXONOMY OF VIRUSES (ICTV). Virus Taxonomy. Virus Taxonomy: 2021. Release. Disponível em: <https://ictv.global/taxonomy>.

KARN, J. & STOLTZFUS, C. M. Transcriptional and posttranscriptional regulation of HIV-1 gene expression. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 2(2): a006916, 2012.

KRUPOVIC, M. *et al.* Ortervirales: new virus order unifying five families of reverse-transcribing viruses. *Journal of Virology*, 2018.

MACDONALD, K. S. *et al.* Influence of HLA supertypes on susceptibility and resistance to Human Immunodeficiency Virus Type 1 infection. *The Journal of Infectious Diseases*, 181(5): 1.581-1.589, 2000.

MARTIN, M. P. *et al.* Epistatic interaction between KIR3DS1 and HLA-B delays the progression to Aids. *Nature Genetics*, 31: 429-434, 2002.

MARTIN, M. P. *et al.* Innate partnership of HLA-B and KIR3DL1 subtypes against HIV-1. *Nature Genetics*, 39: 733-740, 2007.

MOSTASHARI, R. T.; SAGHAIE, L. & FASSIHI, A. HIV-1 entry inhibitors: a review of experimental and computational studies. *Chemistry and Biodiversity*, 15(10), 2018.

PETERSON, T. A. *et al.* HLA class I associations with rates of HIV-1 seroconversion and disease progression in the Pumwani Sex Worker Cohort. *Tissue Antigens*, 81(2): 93-107, 2013.

PONTILLO, A. *et al.* A 3'UTR SNP in NLRP3 gene is associated with susceptibility to HIV-1 infection. *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes*, 54(3): 236-240, 2010.

PONTILLO, A. *et al*. Polymorphisms in inflammasome' genes and susceptibility to HIV-1 infection. *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes*, 59: 121-125, 2012.

SHARMA, G.; KAUR, G. & MEHRA, N. HIV virology, diversity and clades genetic correlates influencing immunopathogenesis of HIV infection. *Indian Journal of Medical Research*, 134, 2011.

SHARP, P. M. & HAHN, B. H. Origins of HIV and the Aids pandemic. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 2011.

SILVA, R. K. M. *et al*. Genetic characterization of a new HIV-1 sub-subtype A in Cabo Verde, Denominated A8. *Viruses*, 13(6): 1.093, 2021.

UNAIDS. Joint United Nations Programme on HIV/AIDS. *AIDS info*. Geneva, 2022. Disponível em: <http://aidsinfo.unaids.org/>. Acesso em: 7 maio 2023.

UNAIDS. Joint United Nations Programme on HIV/AIDS. *Country factsheets*. Brazil, 2021. Disponível em: <http://www.unaids.org/en/regionscountries/countries/brazil>. Acesso em: 7 maio 2023.

WOLFE, N. D. *et al*. Emergence of unique primate T-lymphotropic viruses among central African bushmeat hunters. *PNAS*, 102(22): 7.994-7.999, 2005.

ZHAO, J. *et al*. The role of killer immunoglobulin like receptor genes in susceptibility to HIV-1 infection and disease progression: a meta-analysis. *Aids Research and Human Retroviruses*, 35(10): 948-959, 2019.

HTLV

ARAÚJO, A. Q-C. & ANDRADA-SERPA, M. J. Tropical spastic paraparesis/HTLV-I- associated myelopathy in Brazil. [HTLV-I clinical aspects: neurology]. *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes and Human Retrovirology*, 13, supl. 1: S33- S37, 1996.

BIGGAR, R. J. *et al*. Human leukocyte antigen concordance and the transmission risk via breast-feeding of human T cell lymphotropic virus type I. *The Journal of Infectious Diseases*, 27: 193, 2006.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretária de Vigilância em Saúde. Programa Nacional de DST e Aids. *Guia de Manejo Clínico do Paciente com HTLV*. Brasília: Ministério da Saúde, 2004.

CAMPOS, K. R. *et al*. Line immunoassay for confirmation and discrimination of human T-Cell Lymphotropic Virus infections in inconclusive Western blot serum samples from Brazil. *Journal of Clinical Microbiology*, 58: e01384-19, 2000.

CATALAN-SOARES, B. *et al*. Heterogeneous geographic distribution of human T-cell lymphotropic viruses I and II (HTLV-I/II): serological screening prevalence rates in blood donors from large urban areas in Brazil *Cadernos de Saúde Pública*, 21(3): 926-931, 2005.

CIMINALE, V. *et al*. HTLV-1 and HTLV-2: highly similar viruses with distinct oncogenic properties. *Frontiers in Microbiology*, 5(398), 2014.

COURA, J. R. *Dinâmica das Doenças Infecciosas e Parasitárias*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005.

EUSEBIO-PONCE, E. *et al*. HTLV-1 infection: an emerging risk. Pathogenesis, epidemiology, diagnosis and associated diseases. *Revista Española de Quimioterapia*, 32(6): 485-496, 2019.

GALLO, R. C.; POIESZ, B. J. & RUSCETTI, F. W. Regulation of human T-cell proliferation: T-cell growth factor and isolation of a new class of type-C retroviruses from human T-cells. *Haematology and Blood Transfusion*, 26: 502-514, 1981.

GESSAIN, A. Retrovirus humains HTLV-1 et HTLV-2. *EMC-Maladies Infectieuses*, 1: 203-220, 2004.

GONÇALVES, D. U. *et al*. Epidemiology, treatment, and prevention of human T-Cell Leukemia virus type 1-associated diseases. *Clinical Microbiology Reviews*, 23(3): 577-589, 2010.

HALL, WW. *et al*. Human T lymphotropic virus Type II (HTLV-II): epidemiology, molecular properties, and clinical features of infection. *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes and Human Retrovirology*, 13, supl.: S204-S214, 1996.

ISHAK, R. *et al*. Identification of human T-cell lymphotropic virus type IIa infection in the Kayapo, an indigenous population of Brazil. *Aids Research and Human Retroviruses*, 11: 813-821, 1995.

ISHAK, R. *et al*. Epidemiological aspects of retrovirus (HTLV) infection among Indian populations in the Amazon Region of Brazil. *Cadernos de Saúde Pública*, 19(4): 901-914, 2003.

ISHAK, R.; ISHAK, M. O. G. & VALLINOTO, A. C. R. The challenge of describing the epidemiology of HTLV in the Amazon region of Brazil. *Retrovirology*, 17: 4, 2020.

MARINO-MERLO, F.; BALESTRIERI, E. & MATTEUCCI, C. Antiretroviral therapy in HTLV-1 Infection: an updated overview. *Pathogens*, 9: 342, 2020.

MARTINEZ, P. M. *et al*. Comparative virology of HTLV-1 and HTLV-2. *Retrovirology*, 16: 21, 2019.

OLINDO, S. *et al*. HTLV-1 proviral load in peripheral blood mononuclear cells quantified in 100 HAM/TSP patients: a marker of disease progression. *Journal of the Neurological Sciences*, 237: 53-59, 2005.

ROMANELLI, L. C. F.; CARAMELLI, P. & PROIETTI, A. B. F. C. O vírus linfotrópico das células T humanas tipo 1 (HTLV-1): quando suspeitar da infecção. *Revista da Associação Médica Brasileira*, 56: 340-347, 2010.

SOUZA, H. C. A. *Soroepidemiologia e Caracterização Molecular da Infecção pelo Vírus Linfotrópico de Células T Humanas 1 e 2 (htlv-1/2) em Mulheres Gestantes na Cidade de Belém, Pará*, 2007. Dissertação de Mestrado, Belém: Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Pará.

Hepatite B

BANCROFT, W. H.; MUNDON, F. K. & RUSSELL, P. K. Detection of additional antigenic determinants of hepatitis B antigen. *Journal of Immunology*, 109: 842-848, 1972.

BRASIL. Ministério da Saúde. *Estudo de Prevalência de Base Populacional das Infecções Pelos Vírus das Hepatites A, B e C Nas Capitais do Brasil*. Brasília: Ministério da Saúde, 2010. (Coordenação Geral Universidade de Pernambuco Núcleo de Pós-Graduação. Inquérito Nacional de Hepatites A, B e C)

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância, Prevenção e Controle das Infecções Sexualmente Transmissíveis, do HIV/Aids e das Hepatites Virais. *Manual Técnico para o Diagnóstico das Hepatites Virais*. Brasília: Ministério da Saúde, Ministério da Saúde, 2016.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. *Boletim Epidemiológico – Hepatites Virais*, ano VII, n. 1, 2019.

DIENSTAG, J. L. Hepatitis B virus infection. *The New England Journal of Medicine*, 359: 1.486-1.500, 2008.

GANEM, D. & VARMUS, H. E. The molecular biology of the hepatitis B viruses. *Annual Review of Biochemistry*, 56, 651-693, 1987.

GANEM, D. Hepadnaviridae and their replication. *In*: FIELDS, B. N. *et al*. *Virology*. 2. ed. Philadelphia: Lippincot-Raven, 1996.

LAMPE, E. *et al*. On behalf of The Brazilian hepatitis B research group. Nationwide overview of the distribution of hepatitis B virus genotypes in Brazil: a 1000-sample multicentre study. *Journal of General Virology*, 98(6): 1.389-1.398, 2017.

LIN, C.-L. & KAO, J.-H. The clinical implications of hepatitis B virus genotype: Recent advances. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 26, supl. 1: 123-130, 2011.

TAKAHASHI, T. *et al*. Large scale isolation of. Dane particles from plasma containing hepatites B antigen and demonstration of circular double-stranded DNA molecule extruding directly from their core. *The Journal of Immunology*, 117: 1.392-1.397, 1976.

TRIPATHI, N. & MOUSA, O. Y. *Hepatitis B*. Treasure Island: StatPearls Publishing, 2020.

VILLAR, L. M. *et al*. Update on hepatitis B and C virus diagnosis. *World Journal of Virology*, 4(4): 323-342, 2015.

VIVALDINI, S. M. *et al*. Análise exploratória espacial de casos de HBV no Brasil entre 2005 e 2017. *Revista Brasileira de Epidemiologia*, 22(l): 1e190007, 2019.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). *WHO Guidelines on Hepatitis B and C Testing*. Geneva: World Health Organization, 2017.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Global hepatitis report 2017. Disponível em: <http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/255016/9789241565455-eng.pdf;jsessionid=A1E5CF10018D99C7C1291A9BCA6F05A9?sequence=1>. Acesso em: 12 abr. 2022.

Hepatite C

ALTER, M. J. *et al*. The prevalence of hepatitis C virus infection in the United States, 1988 through 1994. *The New England Journal of Medicine*, 341: 556-562, 1999.

ALTER, M. J. Epidemiology of hepatitis C virus infection. *World Journal of Gastroenterology*, 13: 2.436-2.441, 2007.

ALTER, M. J. Prevention of spread of hepatitis C. *Hepatology*, 36: 93-98, 2002.

BLACKARD, J. T. *et al*. Acute hepatitis C vírus infection: a chronic problem. *Hepatology*, 47: 321-331, 2008.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. *Boletim Epidemiológico – Hepatites Virais*, 2019. Disponível em: <www.aids.gov.br>. Acesso em: 12 abr. 2022.

BRASIL. Ministério da Saúde. 2019. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas Para Hepatite C e Coinfecções - Aids e DST. Disponível em: <www.aids.gov.br>. Acesso em: 12 abr. 2022.

BRASS, V.; MORADPOUR, D. & BLUM, H. E. Hepatitis C virus infection: in vivo and in vitro models. *Journal of Viral Hepatitis*, 1: 64-67, 2007.

CHEN, S. L. & MORGAN, T. R. The natural history of hepatitis C virus (HCV) infection. *International Journal of Medical Sciences*, 3: 47-52, 2006.

CHOO, Q.-L. *et al*. Isolation of a clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome. *Science*, 244: 359-362, 1989.

CHOWDHURY, A. *et al*. Hepatitis C virus infection in the general population: a community-based study in West Bengal, India. *Hepatology*, 37: 802-809, 2003.

HOFFMANN, T. W.; DUVERLIE, G. & BENGRINE, A. MicroRNAs and hepatitis C virus: toward the end of miR-122 supremacy. *Virology Journal*, 9: 109, 2012.

KATSOULIDOU, A. *et al*. Molecular epidemiology of a hepatitis C virus outbreak in a hemodialysis unit. *Nephrology, Dialysis, Transplantation*, 14: 1.188-1.194, 1999.

LAVANCHY, D. The global burden of hepatitis C. *Liver International*, 29: 74-81, 2009.

LEMON, S. M. *et al*. 2007. Hepatitis C virus. *In*: FIELDS, B. N. *et al*. *Virology*. Philadelphia: Lippincott Williams &Wilkins, 2007.

LI, X. *et al*. Identification of hepatitis C virus by immunoelectron microscopy. Journal of Viral Hepatites, 2: 227-234, 1995.

LIM, E. J. *et al*. Hepatitis C virus-induced hepatocyte cell death and protection by inhibition of apoptosis. *Journal of General Virology*, 95(Pt 10): 2.204-2.215, 2014.

MARTINS, T.; NARCISO-SCHIAVON, J. & SCHIAVON, L. L. Epidemiologia da infecção pelo vírus da hepatite C. *Revista da Associação Médica Brasileira*, 57: 107-112, 2011.

MURPHY, D. *et al*. Hepatitis C virus genotype 7, a new genotype originating from Central Africa. *Journal of Clinical Microbiology*, 53(3): 967-972, 2015.

NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH (NIH). National Institutes of Health Consensus Development Conference Statement: management of Hepatitis C. *Hepatology*, 36: 3-20, 2002.

NICK, S. & SCHEIBLAUER, H. Sensitivities of CE – Marked HIV, HCV, and HBsAg Assays. *Journal of Medical Virology*, 79: 59-64, 2007.

OLIVEIRA, M. L. *et al*. Prevalence and risk factors for HBV, and HDV infections among injecting drug users from Rio de Janeiro, Brazil. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 32: 1.007-1.014, 1999.

PAROLIN, M. B. *et al*. Multicenter study on the prevalence of hepatitis C virus infection in blood donors in the city of Curitiba, Brazil. *Arquivos de Gastroenterologia*, 36: 117-121, 1999.

PAWLOTSKY, J. M. Therapeutic implications of hepatitis C virus resistance to antiviral drugs. *Advances in Gastroenterology*, 4: 205-219, 2009.

PERZ, J. F. *et al*. Estimated global prevalence of hepatitis C virus infection. *In*: ANNUAL MEETING OF THE INFECTIOUS DISEASES SOCIETY OF AMERICA, 42, 2004, Boston.

SIMMONDS, P. *et al*. Classification of hepatitis C virus into six major genotypes and a series of subtypes by phylogenetic analysis of the NS-5 region. *Journal of General Virology*, 74: 2.391-2.399, 1993.

SIMMONDS, P. Genetic diversity and evolution of hepatitis C virus – 15 years on. *Journal of General Virology*, 85: 3.17-3.188, 2004.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE HEPATOLOGIA (SBH). Relatório do Grupo de Estudo da Sociedade Brasileira de Hepatologia. Epidemiologia da infecção pelo vírus da hepatite C no Brasil. *GED: gastroenterologia endoscopia digestiva*, 18:53-58, 1999.

STRAUSS, E. Hepatite C. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 34: 69-82, 2001.

TAKAHASHI, K. *et al*. P26 protein and 33-nm particles associated with nucleocapsid of hepatitis C virus recovered from the circulation of infected host. *Virology*, 191: 431-434, 1992.

TAKAHASHI, M. *et al*. Natural course of chronic hepatitis C. *The American Journal of Gastroenterology*, 88: 240-243, 2004.

UYTTENDAELE, S. *et al*. Evalution of third generation screening and confirmatory assays for HCV antibodies. *Vox Sanguinis*, 66: 122-129, 1994.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). HCV, 2018. Disponível em: <www.who.int/health-topics/hepatitis#tab=tab_1>. Acesso em: 12 abr. 2022.

YEN, T.; KEEFFE, E. B. & AHMED, A. The epidemiology of hepatitis C virus infection. *Journal of Clinical Gastroenterology*, 36: 47-53, 2003.

YOSHIDA, C. F. *et al*. Hepatitis C virus in chronic hemodialysis patients with non-A non-B hepatitis. *Nefron*, 60: 150-153, 1992.

Papilomavírus

ANDERSON, L. *et al*. Prevalence of human papillomavirus in women attending cervical screening in the UK and Ireland: new data from Northern Ireland and a systematic review and meta-analysis. *Journal of Medical Virology*, 85: 295-308, 2012.

ASSOCIAÇÃO HOSPITALAR MOINHO DE VENTO. Estudo epidemiológico sobre a prevalência nacional de infecção pelo HPV: POP-Brasil. Porto Alegre: Associação Hospitalar Moinhos de Vento, 2017. Disponível em: <https://www.gov.br/aids/pt-br/centrais-de-conteudo/publicacoes/2020/estudo-epidemiologico-sobre-a-prevalencia-nacional-de-infeccao-pelo-papilomavirus-humano-pop-brasil-2015-2017/view>. Acesso em: 20 mar. 2021.

CARVALHO, J. M. *Avaliação e Conduta no Parceiro da Mulher com HPV*. São Paulo: Faculdade de Ciência Médicas da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo, 2002.

DIÓGENES, M. A. R.; VARELA, Z. M. V. & BARROSO, G. T. Papillomavirus humano: repercussão na saúde da mulher no contexto familiar. *Revista Gaúcha de Enfermagem*, 27: 266-273, 2006.

DUNNE, E. F. *et al*. Prevalence of HPV infection among men: a systematic review of the literature. *The Journal of Infectious Diseases*, 194: 1.044-1.057, 2006.

FEDRIZZI, E. N. Epidemiology of the genital HPV infection. *Revista Brasileira de Patologia do Trato Genital Inferior*, 1: 3-8, 2011.

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER (INCA). Estimativa de incidência de câncer no Brasil, 2023. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/sites/ufu.sti.inca.local/files//media/document//estimativa-2023.pdf>. Acesso em: 4 abr. 2023.

MCQUILLAN, G. *et al*. *Prevalence of HPV in Adults aged 18-69: United States, 2011-2014. NCHS data brief, no 280*. Hyattsville: National Center for Health Statistics, 2017.

NOVAES, L. C. G. *et al*. Biologia molecular dos papilomavírus humanos e sua participação na carcinogênese. *Revista de Saúde do Distrito Federal*, 13: 29-36, 2002.

STIVANIN, T. Vacina contra HPV, 2012. Disponível em: <www.bolsademulher.com/corpo/materia/vacina_contra_hpv/4435/1>. Acesso em: 12 abr. 2022.

SUNDSTROM, K. *et al*. Prospective study of HPV16 viral load and risk of in situ and invasive squamous cervical cancer. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*, 22(1): 150-158, 2012.

TEIXEIRA, J. C. Avaliação do parceiro sexual e risco de recidivas em mulheres tratadas por lesões genitais induzidas por Papilomavírus Humano (HPV). *Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia*, 23(5), 2000.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). 2008: Immunization, Vaccines and Biologicals. Disponível em: <https://www.who.int/data/gho/data/themes/immunization>. Acesso em: 20 abr. 2020.

Herpesvírus

GROVES, M. J. Genital herpes: a review. *American Family Physician*, 93(11): 928-934, 2016

LOPES, A. O.; SPITZ, N. & MARTINELLI, K. G. Introduction of human gammaherpesvirus 8 genotypes A, B, and C into Brazil from multiple geographic regions. *Virus Research*, 276: 197.828, 2020.

MUTTI, C.; CURT, E. & CILIENTO, R. Herpes simplex virus 1 encephalitis with normal cerebrospinal fluid after brain radiotherapy in a patient with glioblastoma. A case report and review of literature. *Acta Biomedica*, 90(2): 327-330, 2019.

RODRIGUES, L. L.; PILOTTO, J. H. & LIMA, L. R. Self-collected versus clinician-collected samples for HSV-2 and HSV-2/HPV screening in HIV-infected and -uninfected women in the Tapajós Region, Amazon, Brazil. *International Journal of STD & AIDS*, 30(11): 1.055-1.062, 2019.

SABETI, M. Herpesviruses in endodontic pathosis. *In*: FOUAD, A. F. *Endodontic Microbiology*. Ames: Wiley-Blackwell, 2009.

SLOTS, J. Oral viral infections of adults. *Periodontology*, 49: 60-86, 2009.

VARELLA, R. B. *et al*. Laboratorial diagnosis of herpes simplex virus infection (HSV) in transplanted and non- transplanted patients. Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial, 41: 257-262, 2005.

WALD, A. *et al*. Genital shedding of herpes simplex virus among men. *The Journal of Infectious Diseases*, 186, supl. 1: S34-39, 2002.

WIGG, M. D. & SOUZA DE MIRANDA, M. M. F. Viroses dermotrópicas. *In*: SANTOS, N. O. S.; ROMANOS, M. T. V. & WIGG, M. D. *Introdução à Virologia Humana*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008.

6

Viroses de Veiculação Hídrica

Luciane Almeida Amado Leon • Lyana Rodrigues P. Lima Capobianco • Natália Maria Lanzarini • Nathália Alves Araujo de Almeida • Vanessa Salete de Paula

Vírus da Hepatite A

Aspectos gerais

O vírus da hepatite A (HAV), também conhecido como *Hepatovirus A*, pertence à família *Picornaviridae* e ao gênero *Hepatovirus*. É um vírus não envelopado, com genoma formado por um RNA de fita simples, de polaridade positiva. Conta com capsídeo de simetria icosaédrica e mede aproximadamente de 25 a 32 nm de diâmetro. O genoma do HAV apresenta 7,5 kilobases (kb) e, quando expresso, é traduzido em uma poliproteína que codifica proteínas não estruturais e estruturais (VP1, VP2, VP3 e VP4).

O HAV é um vírus resistente à variação das condições ambientais, do pH, dos sais biliares e das enzimas proteolíticas intestinais, sendo potencialmente infeccioso quando presente nas fezes de indivíduos infectados. Atualmente, são reconhecidos seis genótipos de HAV (I a VI) baseados no sequenciamento da região que codifica a proteína VP1 completa. Os genótipos I-III são associados com infecções em humanos e subdividem-se em subtipos A e B. O genótipo I é o mais prevalente no mundo e o subtipo IA mais comum do que IB. Os genótipos IV-VI foram isolados somente em símios.

Formas de transmissão

A transmissão do vírus pode ocorrer pela via fecal-oral, por ingestão de água e alimentos contaminados, e por contato direto em condições de higiene precária. Outras formas de transmissão, menos comuns, têm sido descritas, como a via parenteral, pela transfusão sanguínea em pacientes hematológicos, e entre usuários de drogas, por compartilhamento de seringas contaminadas. A transmissão sexual pode ocorrer através da prática do sexo oroanal e orogenital.

Patogenia e manifestações clínicas

Após a ingestão, o HAV atinge os hepatócitos pela corrente sanguínea, onde ocorre a sua replicação. Após esse processo, há liberação dos novos vírus na bile, chegando ao intestino delgado, com posterior excreção nas fezes do indivíduo infectado. O período de incubação varia de 15 a 45 dias (em média 30 dias), durante o qual – entre uma e duas semanas após exposição ao HAV – o vírus começa a ser liberado em grandes quantidades nas fezes. O pico da excreção viral coincide com o aparecimento da doença, para então começar a declinar.

A hepatite A tem curso benigno e um amplo espectro clínico, que pode apresentar-se de forma assintomática e, em alguns casos, evoluir para formas graves e óbito. A gravidade do quadro clínico está associada com a idade em que o indivíduo contrai a doença. Crianças menores de 5 anos normalmente desenvolvem um quadro assintomático, ao passo que adolescentes e adultos podem desenvolver doença sintomática com febre, dor abdominal, icterícia, acolia fecal, bilirrubinúria, náuseas e mal-estar.

> Pele e conjuntivas amareladas ou alaranjadas em virtude do aumento da bilirrubina (pigmento produzido no fígado).

> Redução ou interrupção do fluxo da bile.

Outras manifestações, como desenvolvimento de colestase, reincidência da hepatite, manifestações extra-hepáticas e hepatite fulminante também podem ocorrer, porém são raras. O tempo de evolução da doença dura, em média, até dois meses. Em cerca de 15% dos casos, manifestações brandas podem persistir por até seis meses, com eventual reaparecimento das manifesta-

ções clínicas. A letalidade está em torno de 0,3% dos casos, sendo mais comum em adultos, nos quais a evolução para a forma grave ocorre com maior frequência.

Epidemiologia

A hepatite A é responsável por, pelo menos, 1,5 milhão de novas infecções por ano no mundo. Em 2016, a Organização Mundial da Saúde (OMS) estimou que a hepatite A causa cerca de 8 mil óbitos anualmente e que a taxa de mortalidade associada às hepatites é de 0,8%.

Altas prevalências de hepatite A são encontradas em áreas de baixas condições socioeconômicas e de pouco saneamento básico. Em países onde a doença é endêmica, o contato com o vírus geralmente ocorre na infância. Ocasionalmente, podem surgir surtos. Esses padrões são encontrados na África e no Oriente Médio, bem como em alguns países da América Latina e da Ásia. Em países com endemicidade moderada, o contato com o vírus geralmente ocorre na adolescência e na fase adulta; em decorrência de adequadas condições de higiene e saneamento básico, as pessoas não entram em contato com o vírus na infância. Por sua vez, nos países com baixa prevalência de hepatite A, a doença ocorre de forma esporádica, durante viagens para áreas endêmicas.

Surtos de hepatite A em comunidades ou populações confinadas geralmente resultam da contaminação viral de uma única fonte, como água potável ou alimentos contaminados ingeridos crus ou mal lavados/higienizados – frutas, verduras, legumes, ostras, mexilhões e outros mariscos. Surtos também podem ocorrer em creches e escolas, locais em que aglomeração e condições inadequadas de higiene, bem como a alta proporção de indivíduos suscetíveis, são fatores que contribuem para a transmissão entre crianças.

O Brasil, atualmente, vive uma mudança no perfil epidemiológico da doença. Apesar de a taxa de incidência de hepatite A ter permanecido elevada em crianças com até 10 anos de idade, após 2010 foi observada uma redução em todos os grupos etários. A faixa etária de 0 a 9 anos corresponde a 53,2% dos casos acumulados. Entretanto, os casos mais

que dobraram em homens de 20 a 39 anos, indicando o desvio do padrão de alta endemicidade para endemicidade intermediária e, com isso, um aumento potencial para novos surtos, pois vários indivíduos são suscetíveis.

Diagnóstico

A hepatite A não pode ser clinicamente diferenciada de outras hepatites virais, portanto é necessária a realização do diagnóstico laboratorial para a confirmação da etiologia. São utilizados testes sorológicos específicos, geralmente ensaios imunoenzimáticos, que detectam anticorpos imunoglobulina M (IgM) anti-HAV e anti-HAV total. O aparecimento de anticorpos imunoglobulina G (IgG), anticorpo que indica infecção passada, caracteriza a cura e imunidade ao vírus. A detecção do material genético é realizada por RT-PCR e RT-PCR em tempo real (qPCR).

Vírus da Hepatite E

Aspectos gerais

A hepatite E é uma doença infecciosa aguda causada pelo vírus da hepatite E (HEV), também conhecido como *Hepatovirus E*, que causa inflamação e necrose no fígado. O vírus pertence à família *Hepeviridae* e ao gênero *Orthohepevirus*. O gênero *Orthohepevirus* é dividido em quatro espécies: *Orthohepevirus A* até *D*. *Orthohepevirus A* é descrito em humanos, porcos e javalis; *Orthohepevirus B* em frangos; *Orthohepevirus C* em roedores; e *Orthohepevirus D* em morcegos.

Orthohepevirus A, a espécie de maior importância epidemiológica, apresenta um único sorotipo e oito genótipos definidos para o HEV. Os genótipos 1 e 2 são exclusivos de humanos; o genótipo 3 foi descrito em humanos, porcos e coelhos; o genótipo 4 é detectado circulando entre humanos e porcos; 5 e 6 em javalis selvagens; e 7 e 8 em dromedários e camelos.

É um vírus não envelopado, com genoma formado por um RNA de fita simples, polaridade positiva, que mede aproximadamente 7,2 kb. Possui capsídeo de simetria icosaédrica e mede aproximadamente de 27 nm a 34 nm de diâmetro.

Formas de transmissão

O HEV pode ser transmitido principalmente por via fecal-oral, por ingestão de água e alimentos contaminados. Outras formas incluem ingestão de carne ou produtos derivados de animais em áreas onde há transmissão zoonótica, bem como transfusão sanguínea. Menos comum, mas já descrita, está a possibilidade de transmissão vertical.

Patogenia e manifestações clínicas

O HEV é excretado nas fezes antes do aparecimento dos sinais e sintomas e do aumento dos níveis das enzimas hepáticas. A replicação viral ocorre nos hepatócitos com liberação do vírus no sangue e na bile. Um período virêmico é observado a partir do 22º dia após a infecção até o sétimo dia após o início dos sintomas; porém, existem relatos de viremia prolongada, perdurando de 48 a 115 dias pós-infecção.

O quadro clínico da infecção causada pelo HEV em humanos é semelhante ao do HAV, caracterizando-se como doença sintomática aguda e autolimitada; há, entretanto, relatos de casos graves – com o desenvolvimento de hepatite fulminante – e casos persistentes. Infecções assintomáticas e inaparentes são comuns. A hepatite clássica é acompanhada de sinais e sintomas como febre, dor abdominal, icterícia, anorexia, hepatomegalia, náuseas e vômitos.

A doença crônica é relatada apenas em imunocomprometidos; os casos graves associados com hepatite fulminante foram relatados em crianças, pacientes renais crônicos, recém-transplantados e em quadros de coinfecção. A taxa de mortalidade da infecção pelo HEV está em torno de 0,5% a 3,3% dos casos e, em mulheres grávidas infectadas pelo genótipo 1 do HEV, uma taxa elevada de 10% a 30% de hepatite fulminante foi relatada.

Epidemiologia

A primeira identificação retrospectiva de um surto de hepatite E ocorreu entre 1955 e 1956, na Índia, contabilizando 29,3 mil casos. Surtos têm sido descritos principalmente na África, Ásia e América Central. Em regiões não endêmicas, como América do Sul, América do Norte, Europa e Oceania, ocorrem casos esporádicos da doença associados a viagens para área endêmicas. Riscos de infecção e de mortalidade pelo HEV têm sido descritos em filhos de mães infectadas. Na espécie *Orthohepevirus C*, genótipos C1 e C3 – antes exclusivamente detectados em roedores –, têm sido descritos casos esporádicos em humanos na Ásia e nos Estados Unidos.

O HEV é a causa mais comum de hepatite viral aguda em humanos, com um número estimado, em 2015, pela OMS, de 20 milhões de novas infecções em todo o mundo, das quais 3,3 milhões são sintomáticas e cerca de 70 mil são letais.

Na espécie *Orthohepevirus A*, o genótipo 3 é o mais frequente no Brasil e no mundo. A via de transmissão do HEV está relacionada ao genótipo do vírus. Existem fortes evidências de que o porco é o principal reservatório e transmissor do genótipo 3 para o homem. Estudos apontam que pessoas em contato profissional com porcos, como veterinários, trabalhadores de matadouros e manipuladores, apresentam anticorpos anti-HEV com maior frequência. No Brasil, há poucos dados sobre a epidemiologia da hepatite E, sendo a maioria evidências sorológicas de anticorpos anti-HEV.

Diagnóstico

Em relação ao diagnóstico laboratorial, a elevação de enzimas utilizadas em testes de função hepática – associada com a presença de anticorpos IgM e IgG anti-HEV no soro ou nas fezes por ensaios imunoenzimáticos – confirmam o diagnóstico.

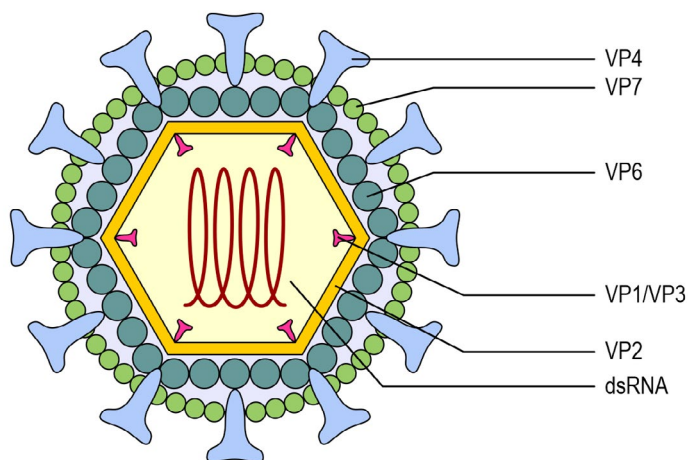
O emprego dos testes imunoenzimáticos em áreas não endêmicas vem sendo questionado em razão de sua falta de especificidade. Por esse motivo, a detecção do material genético tem sido mais utilizada por apresentar alta

especificidade. A RT-PCR e a qPCR são empregadas para o diagnóstico laboratorial, porém não há ainda *kits* comerciais disponíveis.

Rotavírus

Aspectos gerais

O rotavírus (RV) pertence à família *Reoviridae* e ao gênero *Rotavirus*. É um vírus não envelopado de 75 nm e simetria icosaédrica, com triplo capsídeo altamente resistente e um genoma com 11 segmentos de RNA fita dupla. O genoma do RV codifica seis proteínas estruturais (VP1-VP4, VP6-VP7) e seis proteínas não estruturais (NSP1-NSP6). O nome rotavírus deriva da forma característica de roda de carroça, visível por microscopia eletrônica (Figura 1).

Figura 1 – Representação esquemática da partícula viral do rotavírus

Por apresentar 11 segmentos de RNA, os RVs têm ampla variabilidade molecular e antigênica, já que o genoma segmentado permite o acúmulo de mutações e possibilidades de rearranjos. Os RVs são classificados em dez grupos, que vão de A a J, sendo o RV do grupo A (RV-A) o de maior importância epidemiológica. O RV-A pode ser classificado em genótipos com base nas proteínas VP7 (genótipo G) e VP4 (genótipo P). Já foram descritos 27 genótipos do tipo G e 35 genótipos do tipo P. Os genóti-

pos G1P[8], G2P[4], G3P[8], G4P[8] e G9P[8] são os mais prevalentes. Quanto aos sorotipos, a sorologia da VP6 é usada para classificar os RVs do grupo A em subgrupos (SG): I, II, I+II, não I e não II, dentre os quais o mais comum é o SGII.

Formas de transmissão

A principal forma de transmissão do RV é pela via fecal-oral, sendo encontrado em altas concentrações nas fezes de indivíduos infectados. O período de excreção viral máxima acontece nos terceiro e quarto dias a partir dos primeiros sintomas. Há evidências de transmissão interespécie e de rearranjos entre rotavírus humanos e animais. Algumas espécies, como cães, gatos, porcos e bois, contribuem frequentemente para a diversidade genética do vírus encontrado em humanos.

Patogenia e manifestações clínicas

Após a ingestão das partículas virais infectantes, no trato gastrointestinal a proteína VP4 é clivada pelas enzimas pancreatina, tripsina ou elastase em duas proteínas – VP5 e VP8 –, permitindo que ocorra a ligação do RV às células do epitélio do intestino delgado. Ao replicar-se, o vírus provoca lesão, causando má-absorção de alimentos e desencadeando um processo diarreico de natureza osmótica, com a participação da proteína enteropatogênica NSP4.

O período de incubação varia de um a quatro dias e os sintomas de um quadro típico de rotavirose são a presença de vômito, diarreia aquosa, febre e dor abdominal, podendo evoluir para a forma mais grave com quadros de desidratação. A infecção por RV-A ocorre em indivíduos de todas as faixas etárias, sendo crianças abaixo de 5 anos de idade as mais acometidas.

Epidemiologia

A maioria dos casos de gastroenterite causada pelo RV-A ocorre em países em desenvolvimento. Nos países de clima temperado, a infecção apresenta uma distribuição sazonal característica, com picos epidêmicos

anuais no inverno. Nos países de clima tropical e subtropical, a infecção ocorre ao longo de todo o ano. Segundo a OMS, a infecção por rotavírus foi responsável por 528 mil mortes por ano em crianças menores de 5 anos no mundo, antes da implementação da vacina, diminuindo para 215 mil, segundo dados de 2013. Isso indica a eficácia da vacina na diminuição da internação e morte por RV, com redução da mortalidade infantil, no âmbito dos objetivos da *Agenda 2030*. Quando falamos de América Latina e Caribe, outros desafios são encontrados; apesar de uma redução no número de mortes e internações, a rotavirose continua sendo importante causa de morbidade e mortalidade relacionada à diarreia, ocasionando 8 mil mortes em crianças menores de 5 anos anualmente.

Antes da introdução da vacina, em 2006, as rotaviroses causavam 3,5 milhões de gastroenterites, mais de 600 mil consultas laboratoriais, 92 mil hospitalizações e 850 óbitos em crianças menores de 5 anos, a cada ano, no Brasil. Atualmente, esses números diminuíram cerca de 70%, com surtos esporádicos em algumas regiões.

Após a implementação da vacinação, a infecção por rotavírus foi menos prevalente em crianças menores de 2 anos que chegaram aos serviços de saúde com diarreia. Também se observou uma diminuição da circulação do genótipo P[8] e o surgimento do genótipo G2P[4], em 2005, no Brasil. Na era pós-vacinal, foi observada disseminação do genótipo G12P[8] em 2014 e 2015 e do G3P[8] em 2017. A vigilância epidemiológica dos genótipos circulantes é importante no monitoramento da possível substituição de genótipos após a introdução da vacina, assim como na investigação da necessidade, ou não, do desenvolvimento de novas vacinas.

Diagnóstico

O diagnóstico laboratorial é feito pela detecção do vírus nas fezes. Entre os métodos disponíveis, existem ensaios imunoenzimáticos de captura de antígeno, detecção do genoma viral em eletroforese em gel de poliacrilamida (RNA-PAGE) e a RT-PCR ou a qPCR. Entre os testes rápidos disponíveis, há os testes imunocromatográficos e os testes de aglutinação em látex.

Norovírus

Aspectos gerais

Os norovírus (NoVs) pertencem à família *Caliciviridae*, gênero *Norovirus*. De uma família com 11 gêneros, outros exemplos incluem os *Sapovirus*, os quais também provocam gastroenterite aguda em humanos, e os *Lagovirus* e *Vesivirus*, infectando animais. Os norovírus apresentam estrutura icosaédrica e uma camada proteica com protrusões proeminentes formando depressões, semelhantes a uma taça na superfície do capsídeo.

Trata-se de vírus não envelopados, com 27 nm a 40 nm de diâmetro, RNA de polaridade positiva, com um genoma de 7,5 kb organizado em três regiões abertas de leitura (ORFs, sigla do inglês para *open reading frame*). A ORF1 codifica uma poliproteína, que é clivada em sete proteínas não estruturais (NS1-NS7), a ORF2 codifica uma proteína estrutural do capsídeo (VP1), e a ORF3 codifica uma pequena proteína estrutural (VP2).

Formas de transmissão

Os NoVs são altamente contagiosos em razão do elevado nível de excreção viral. Sua transmissão ocorre por meio de água e alimentos contaminados, ou pelo contato com partículas de saliva e/ou vômito da pessoa infectada. A transmissão dessa infecção está associada a locais com condições não adequadas de higiene.

Patogenia e manifestações clínicas

As principais manifestações clínicas associadas à infecção pelo NoV são: gastroenterite aguda, com fezes diarreicas, acompanhada de náuseas, vômitos e dores abdominais com duração de 12 a 24 horas, podendo a diarreia durar por mais tempo. A eliminação do vírus geralmente persiste por mais de 15 dias após o aparecimento dos sintomas.

Epidemiologia

Os NoVs substituíram os RVs como a principal causa de gastroenterite aguda viral em seres humanos no mundo após o lançamento da vacina contra RVs. Por isso, são considerados, atualmente, os principais agentes causadores de surtos de gastroenterite aguda associada à transmissão hídrica e alimentar.

Esses vírus estão intimamente relacionados ao surgimento de surtos esporádicos da doença em ambientes como restaurantes, escolas, creches, hospitais, asilos e cruzeiros marítimos, com detecção molecular descrita em 12% dos casos. Os surtos de NoVs parecem estar relacionados a fatores genéticos e ambientais.

Algumas características dos NoVs contribuem para a emergência e reemergência viral e ocorrência de surtos. Os NoVs apresentam alta diversidade genética e antigênica. Por serem vírus não envelopados, são mais resistentes à desinfecção e podem permanecer por tempo prolongado no ambiente. A detecção do RNA viral no ambiente, uma molécula menos estável, pode ser usada para monitorar a incidência em determinadas localidades. Uma porcentagem dos indivíduos infectados é assintomática, o que dificulta o monitoramento de casos clínicos, mas reforça a necessidade de monitoramento ambiental. Quanto à geração de uma resposta imune contra o NoV, observa-se uma imunidade cepa-específica com períodos curtos de duração.

Mundialmente, estima-se que os NoVs levem a 1,1 milhão de hospitalizações e 220 mil mortes por ano. Diferentemente dos RVs, que afetam principalmente crianças menores de 5 anos de idade, os NoVs causam gastroenterite aguda em pessoas de todas as idades. Tem-se identificado infecção por NoVs em indivíduos imunocomprometidos, crianças menores de 5 anos e portadores de doenças crônicas. Nesses grupos específicos, a infecção pode evoluir para uma forma grave, com desidratação e choque hipovolêmico.

Como os NoVs não podem ser cultivados *in vitro* (exceção para norovírus murino) e em virtude da diversidade genética e molecular, os NoVs são classificados em genogrupos. Atualmente, existem seis genogrupos, classificados de GI a GVI, conforme a proteína estrutural VP1. Os NoVs

pertencentes aos genogrupos I e II são os que mais comumente infectam humanos. No entanto, um único genótipo, denominado GII.4, vem causando um número expressivo de infecções em todo o mundo.

Discute-se a inclusão de mais um genogrupo, o que representaria sete genogrupos de NoVs. Isso seria devido ao genótipo GII.15, que tem sido descrito em humanos e não havia sido descrito anteriormente. Quanto aos animais, o genótipo GIII tem sido descrito infectando vacas e ovelhas, o GIV.2 em cães, o GV.1 e o GV.2 em camundongos e ratos e o GVII em algumas espécies de cães.

Estudos têm demonstrado que os NoVs acumularam, ao longo do tempo, uma série de mudanças na sequência do gene que codifica a proteína VP1, o que permitiu a evasão do sistema imune na população. A evolução de diferentes genótipos de NoVs demonstra a importância da vigilância laboratorial dos casos de gastroenterite aguda combinada à abordagem ambiental, para compreender o impacto das infecções causadas por NoVs na população.

Diagnóstico

O diagnóstico pode ser realizado em amostras fecais por ensaios imunoenzimáticos e por técnicas moleculares, estas últimas as mais utilizadas. Em casos de surto, recomenda-se também a detecção de vírus em amostra ambiental, como água e alimentos contaminados, por meio de técnicas moleculares, como a qPCR (padrão-ouro).

Astrovírus

Aspectos gerais

Os astrovírus pertencem à família *Astroviridae*, formada pelo gênero *Mamastrovirus*, incluídas as espécies *Mamastrovirus 1-19*, que infectam mamíferos, e pelo gênero *Avastrovirus*, com as espécies *Avastrovirus 1-3*, que infectam aves. As espécies de animais suscetíveis à infecção por astrovírus relatadas são variadas, incluindo animais domésticos, sinantrópicos, selvagens, aves e espécies mamíferas em ambientes terrestres e aquáticos.

Os astrovírus têm de 28 nm a 30 nm de diâmetro, com simetria icosaédrica, e não são envelopados. O seu nome deriva do grego *astron*, que significa "estrela", devido ao seu formato semelhante a uma estrela de cinco pontas quando visto no microscópio eletrônico. Seu genoma é composto por RNA de fita simples, de polaridade positiva, de 6,2 kb a 7,7 kb. O genoma é dividido em ORF1a e ORF1b, codificando proteínas não estruturais – uma serino-protease, uma proteína ligada ao genoma viral (VPg) e uma RNA polimerase RNA dependente (RdRp) –, e em ORF2, que codifica a proteína do capsídeo.

Formas de transmissão

Os astrovírus são transmitidos pela via fecal-oral, pela ingestão de água e de alimentos contaminados. Esses vírus também podem ser transmitidos por meio do consumo de alimentos frescos como verduras, frutas e legumes, além de frutos do mar, como os bivalves (ostras, por exemplo).

Patogenia e manifestações clínicas

As manifestações clínicas desses vírus são típicas de um quadro de gastroenterite aguda, observando-se fezes diarreicas acompanhadas de náuseas, vômitos e dores abdominais, com sintomatologia presente por 24 a 48 horas. Por serem vírus com quadro clínico semelhante a outros vírus gastroentéricos, somente o diagnóstico diferencial por métodos laboratoriais permite identificar o agente etiológico.

Epidemiologia

Os astrovírus humanos (HAstVs) são comumente descritos causando gastroenterites em crianças menores de 2 anos, idosos e indivíduos imunocomprometidos. São responsáveis por 20% das diarreias de etiologia não bacteriana no mundo; no Brasil, esses números variam de 2% a 9%.

O índice de positividade mais elevado reportado no Brasil foi de 28,2% em crianças menores de 5 anos. Os HAstVs possuem oito genótipos descritos como HAstV 1-8. O genótipo mais prevalente no mundo é o HAstV-1,

seguido de HAstV-2, 5 e 8. A frequência dos genótipos varia bastante na população, uma vez que espaço geográfico e fatores climáticos contribuem para que as infecções por HAstVs ocorram. Estudos relatam fatores sazonais relacionados às infecções, ocorrendo principalmente durante o inverno.

Diagnóstico

O diagnóstico pode ser realizado, em amostras fecais, por técnicas moleculares. Em casos de surto, recomenda-se também a investigação por detecção molecular por qPCR do vírus em amostra ambiental, como água e alimentos contaminados.

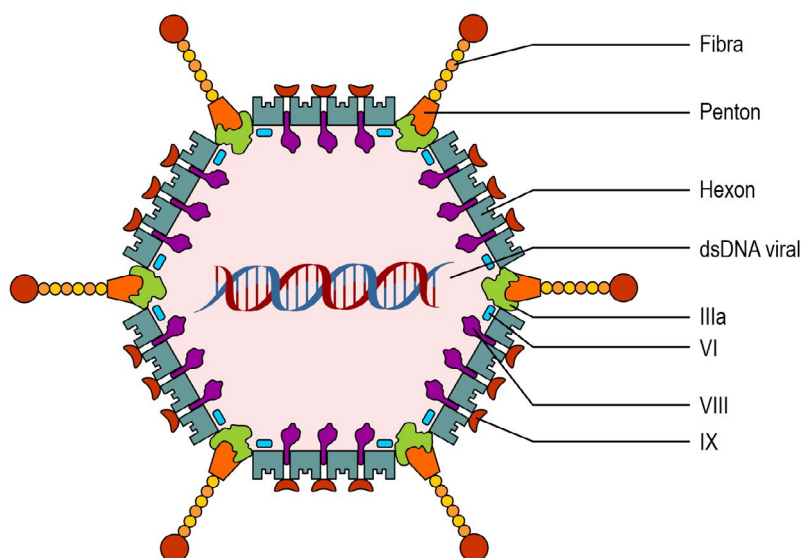
Adenovírus

Aspectos gerais

Os adenovírus têm a capacidade de infectar o trato respiratório, a conjuntiva e o trato gastrointestinal. Pertencem à família *Adenoviridae*, na qual estão incluídos cinco gêneros infectando diversas espécies, dentre eles o gênero *Mastadenovirus*, em que estão incluídos adenovírus humanos, bovinos, equinos, caninos, suínos, entre outros.

Os adenovírus apresentam um capsídeo icosaédrico, com diâmetro variando de 70 nm a 100 nm, não são envelopados e têm um genoma composto de DNA fita dupla linear, variando de 26 kb a 45 kb. As proteínas do capsídeo são compostas de 12 pentons, 12 fibras e 240 hexons. Além disso, existem as proteínas menores IIIa, VI, VIII e IX e as proteínas do core V, VII, Mu, Proteína Terminal, IVa2 e protease (Figura 2).

Os adenovírus são amplamente utilizados em biologia molecular, sendo empregados para fornecer genes a uma variedade de tipos de células. Com isso, têm aplicação em ensaios clínicos relacionados a terapia gênica, viroterapia oncolítica, bem como vetores virais de vacinas contra doenças infectocontagiosas.

Figura 2 – Representação esquemática da partícula viral do astrovírus

Formas de transmissão

A transmissão dos adenovírus pode ocorrer de várias formas, tanto pela via fecal-oral – por meio por ingestão de água e alimentos contaminados – quanto pela via respiratória – por tosse e espirro, no contato direto com gotículas das secreções de indivíduos infectados ou com objetos contaminados. Todos os adenovírus são excretados nas fezes, logo podem estar presentes no esgoto e no ambiente.

Patogenia e manifestações clínicas

O período de incubação do adenovírus humano (HAdV) varia de dois a 14 dias nas infecções no trato respiratório e de três a dez dias no trato gastrointestinal. Em indivíduos imunocompetentes, na maioria das vezes a infecção por adenovírus é branda ou assintomática. No entanto, em virtude de sua ampla apresentação clínica e rápida disseminação, podem acontecer complicações, como pneumonias que podem levar ao óbito. Algumas outras manifestações raras de infecções por HAdV incluem: encefalite,

Desdobramento do intestino que pode causar obstrução intestinal.

meningite, miocardite e cardiomiopatia, displasia pulmonar e intussuscepção intestinal em crianças.

Epidemiologia

Os HAdVs são responsáveis por causar doenças gastrointestinais que podem manifestar-se em qualquer época do ano e, em geral, ocorrem em crianças menores de 5 anos e em pacientes imunocomprometidos. São vírus que também causam doenças respiratórias, mais comuns no fim do inverno, na primavera e no início do verão, mas sem período sazonal estabelecido. Os adenovírus são responsáveis por 5% a 10% das infecções pediátricas e 1% a 7% das infecções do trato respiratório do adulto no mundo.

São raras as infecções sistêmicas disseminadas em hospedeiros imunocompetentes, acometendo de 10% a 30% dos indivíduos imunocomprometidos e transplantados. São também descritos surtos em locais com aglomeração de pessoas, como creches, escolas, acampamentos, estádios de futebol e quartéis.

Atualmente, existem sete espécies conhecidas de adenovírus no gênero *Mastadenovirus*, que infectam humanos e outros seres vivos, classificadas de A a G. Essas espécies estão divididas em mais de oitenta sorotipos, sendo a espécie F a mais prevalente no Brasil, onde estão incluídos os sorotipos 40 e 41, relacionados a um quadro de infecção gastroentérica em humanos. Por sua vez, os adenovírus respiratórios estão representados pelas espécies B (sorotipos 1, 2 e 5) e C (sorotipos 6 e 7) no Brasil.

Os adenovírus têm sido detectados em diversos ecossistemas aquáticos; são vírus não envelopados, formados por um capsídeo proteico e resistentes aos processos de tratamento de água e esgoto. Todos os tipos de adenovírus são excretados nas fezes e, por possuírem um material genético composto de DNA, são mais resistentes à degradação quando comparados aos vírus de RNA. Além disso, não apresentam variação sazonal, podendo ser detectados ao longo de todo o ano. Por isso, os HAdVs são considerados fortes candidatos a indicadores de contaminação fecal humana no ambiente.

Diagnóstico

Entre os métodos de detecção, técnicas moleculares como PCR e qPCR são realizadas em amostras das secreções respiratórias, salivares, oculares e sangue. Para detecção de HAdVs em amostras ambientais – água potável, esgoto, lodo de esgoto, água do mar e água da chuva –, metodologias de concentração são necessárias, como floculação, ultracentrifugação e ultrafiltração, usando controles internos para monitorar a inibição das reações de PCR.

Enterovírus Humano

Aspectos gerais

Os enterovírus pertencem à família *Picornaviridae*, gênero *Enterovirus*. São vírus não envelopados com aproximadamente 30 nm de diâmetro, com capsídeo icosaédrico, RNA de fita simples, polaridade positiva e o genoma de aproximadamente 7,5 kb. De acordo com a diversidade de sequências, eles foram divididos em 15 espécies: *Enterovirus* (A a L), sendo as espécies de A a D capazes de infectar humanos, e *Rhinovirus* (A a C), as três espécies infectando humanos.

No gênero *Enterovirus*, estão incluídos vírus de grande importância epidemiológica, como os poliovírus, coxsackievírus (A e B), enterovírus, echovírus e rinovírus (Quadro 1). Ultimamente, com o avanço dos métodos de biologia molecular, a classificação dos enterovírus sofreu alterações com base nas sequências completas do gene que codifica a proteína VP1 (principal proteína do capsídeo), determinando o aumento do número de sorotipos anualmente.

Quadro 1 – Distribuição do gênero *Enterovírus*, com tipos e principais manifestações clínicas associadas

<table>
<tr><th colspan="4">Enterovírus humano</th></tr>
<tr><th>Gênero</th><th>Espécies</th><th>Principais tipos</th><th>Principais manifestações clínicas associadas</th></tr>
<tr><td rowspan="16">Enterovírus</td><td rowspan="2">Enterovírus A</td><td>Enterovírus A (EV-A)</td><td rowspan="2">Doença mão-pé-boca e conjuntivite hemorrágica</td></tr>
<tr><td>Coxsackievírus A (CVA)</td></tr>
<tr><td colspan="3"></td></tr>
<tr><td rowspan="3">Enterovírus B</td><td>Coxsackievírus B (CVB)</td><td>Miocardite e pericardite</td></tr>
<tr><td>Enterovírus B (EV-B)</td><td>Meningite</td></tr>
<tr><td>Echovírus B (E)</td><td>Paralisia flácida aguda e meningite</td></tr>
<tr><td colspan="3"></td></tr>
<tr><td>Enterovírus C</td><td>Polivírus (PV)</td><td>Poliomielite, encefalite e paralisia flácida aguda</td></tr>
<tr><td colspan="3"></td></tr>
<tr><td>Enterovírus D</td><td>Enterovírus D (EV-D)</td><td>Doença respiratória aguda grave</td></tr>
<tr><td colspan="3"></td></tr>
<tr><td>Rhinovírus A</td><td>Rhinovírus A (RV-A)</td><td rowspan="5">Resfriado comum</td></tr>
<tr><td></td><td></td></tr>
<tr><td>Rhinovírus B</td><td>Rhinovírus B (RV-B)</td></tr>
<tr><td></td><td></td></tr>
<tr><td>Rhinovírus C</td><td>Rhinovírus C (RV-C)</td></tr>
</table>

*Sorotipos mais frequentemente encontrados.

Formas de transmissão

As enteroviroses humanas podem ser transmitidas pela via fecal-oral – por ingestão de água e alimentos contaminados –, pela via intranasal – por meio de aerossóis – ou, em caso de conjuntivites, por meio de secreções oculares.

Patogenia e manifestações clínicas

Após a ingestão, o vírus atravessa o aparelho digestivo, migra em direção ao linfonodo regional e ocorre a viremia primária, associada com o aparecimento de sinais e sintomas e a propagação viral para o sistema reticuloendotelial (baço, fígado e medula óssea). Após a replicação em órgãos-alvo, ocorre a viremia secundária, com possível invasão do sistema nervoso central (SNC). A maioria das infecções é controlada antes da segunda fase virêmica, o que leva à infecção assintomática ou branda.

Os coxsackievírus A, os echovírus e os enterovírus são os principais responsáveis por quadros de meningite asséptica. Além disso, eles podem causar outros tipos de doenças, como sepse neonatal, encefalite, paralisia flácida aguda, doença mão-pé-boca, herpangina, pleurodinia, pericardite e miocardite. Os coxsackievírus B e echovírus também estão implicados como fatores ambientais na etiologia do diabetes tipo 1, pois infectam e causam inflamação de células pancreáticas. Apesar do nome e da via de transmissão, os enterovírus não estão associados a doenças gastrointestinais. Os rinovírus são responsáveis pelo quadro de resfriado comum, mas também podem desencadear doenças graves do trato respiratório e exacerbações da asma, além de obstrução crônica pulmonar.

O EV-A71 é uma das principais causas de complicações neurológicas com risco de morte, como encefalite do tronco cerebral, meningite e paralisia semelhante à poliomielite. O EV-D68 geralmente causa doença respiratória leve, mas também pode causar bronquiolite grave ou pneumonia.

Epidemiologia

Os enterovírus são amplamente distribuídos no mundo. As altas prevalências de enteroviroses estão associadas a baixas condições socioeconômicas e de saneamento básico. A contaminação fecal de efluentes pode ocasionar surtos endêmicos ou epidêmicos, com picos no verão e no outono, atingindo principalmente bebês e crianças.

Embora os enterovírus humanos possam ser isolados de várias fontes ambientais, o homem é o único reservatório natural desses vírus. Nas últimas décadas, o EV-D68 vem sendo cada vez mais detectado durante surtos de doenças respiratórias em todo o mundo. No Brasil, ocorreram surtos de conjuntivite hemorrágica durante o verão em 2017 e 2018, causados por uma variante do coxsackievírus A24.

Diagnóstico

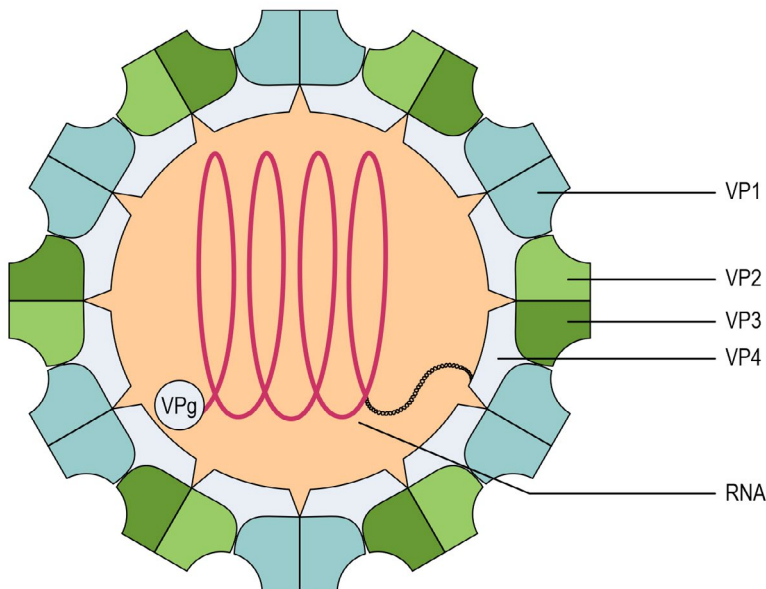
O diagnóstico laboratorial das enteroviroses humanas pode ser realizado por meio de amostras de fezes ou *swab* retal (principalmente para poliovírus), lavado ou *swab* de garganta, líquor, *swab* conjuntival e secreção nasal. A detecção viral nas fezes pode ser realizada por até 30 dias; contudo, alguns enterovírus, como os enterovírus 70 e 72, são excretados antes do início dos sintomas e por um período muito curto após o aparecimento das manifestações.

A técnica considerada padrão-ouro para diagnóstico das enteroviroses é a propagação em cultura de células, que pode ser realizada com as linhagens HeLa (célula de carcinoma do colo do útero humano), MRC-5 (fibroblasto de pulmão de embrião humano) e Vero (rim de macaco-verde africano), entre outras. Métodos moleculares também podem ser empregados no diagnóstico, como a qPCR, para detecção do material genético em espécimes clínicos e provenientes de cultura de células, bem como o sequenciamento genético para a caracterização molecular dos enterovírus.

Poliovírus

Aspectos gerais

O poliovírus, pertencente ao gênero *Enterovirus* e à espécie *Enterovirus C*, é o agente causador da poliomielite. Apresenta uma partícula não envelopada, de cerca de 30 nm de diâmetro, de simetria icosaédrica, contendo um genoma RNA de fita simples e polaridade positiva, que codifica quatro proteínas estruturais – VP1, VP2, VP3 e VP4 –, além das proteínas não estruturais – 2A, 2B, 2C, 3A, 3B, 3C, 3D (Figura 3). Os poliovírus têm três sorotipos: PV1, PV2 e PV3.

Figura 3 – Representação esquemática da partícula viral do poliovírus

Formas de transmissão

A transmissão ocorre pelo contato direto pessoa-pessoa, pelas vias fecal-oral ou oral-oral, por meio de gotículas expelidas ou pela ingestão de água e alimentos contaminados com fezes contendo o vírus.

Patogenia e manifestações clínicas

A poliomielite abortiva é a forma mais comum da doença e o termo remete a uma completa recuperação do paciente em poucos dias. O quadro clínico é caracterizado por febre, cefaleia, náuseas, vômitos, constipação e inflamação da garganta. Na poliomielite não paralítica, também chamada de meningite viral, o indivíduo apresenta os sintomas clássicos de meningite, com rigidez nas costas, acompanhada de dor na nuca e nas costas.

A forma mais característica da doença, a poliomielite paralítica, acomete 1% dos indivíduos infectados pelo poliovírus. Como o vírus nessa fase é capaz de infectar o SNC, leva à destruição de neurônios motores. A paralisia pode afetar um ou vários músculos, ou até todos os músculos do corpo, mas é mais frequente o acometimento dos membros inferiores. Apesar de a poliomielite paralítica ser irreversível, os músculos afetados não perdem a sensibilidade. Quando ocorre a paralisação dos músculos associados ao sistema respiratório, a morte pode ocorrer por asfixia.

Durante a poliomielite, o vírus causa danos e morte de muitos neurônios motores. Nesse processo, os neurônios remanescentes compensam o dano, enviando ramificações para ativar os músculos com neurônios danificados. Com o passar dos anos, os neurônios sobrecarregados entram em exaustão e começam a degenerar-se, promovendo um distúrbio clínico chamado de síndrome pós-pólio. Essa síndrome é caracterizada pelo reaparecimento de sintomas como a perda de força muscular, quadro que leva à diminuição da capacidade funcional e/ou ao surgimento de incapacidades. Alguns pacientes podem, ainda, desenvolver dificuldades de deglutição e respiração.

Epidemiologia

A poliomielite é a enterovirose de maior impacto global na saúde pública. Existe uma resolução global de erradicação da poliomielite desde 1988, com a implementação de programas eficazes de prevenção, vigilância e controle. Os casos de poliovírus selvagem diminuíram mais de 99% desde 1988, passando de 350 mil casos – em mais de 125 países – para 175 casos relatados em 2019.

Das três linhagens de poliovírus selvagem, o tipo 2 foi eliminado em 1999 e nenhum caso de poliovírus selvagem tipo 3 foi encontrado desde o último caso relatado na Nigéria, em novembro de 2012. Ambas as linhagens foram certificadas como eliminadas globalmente. Em 2020, o poliovírus selvagem tipo 1 afetou dois países: Paquistão e Afeganistão. Ainda há risco de importação de casos de países onde há circulação endêmica do poliovírus selvagem. Por isso, reforça-se a necessidade de manter ações permanentes e efetivas de vigilância da doença, assim como níveis adequados de proteção imunológica da população.

No Brasil, o último caso de infecção pelo poliovírus selvagem ocorreu em 1989, na Paraíba. A estratégia adotada para a eliminação do vírus no país foi centrada na realização de campanhas de vacinação em massa.

Diagnóstico laboratorial dos poliovírus

O diagnóstico dos poliovírus envolve aspectos clínicos e epidemiológicos associados à confirmação laboratorial. O espécime clínico utilizado para a detecção de poliovírus são as fezes, até o 14º dia do início do déficit motor. A amostra deve ser congelada e enviada para os laboratórios de referência para ser examinada. O Laboratório de Enterovírus do Instituto Oswaldo Cruz (IOC), da Fiocruz, é referência nacional para o agravo.

A técnica padrão-ouro para diagnóstico das enteroviroses é a propagação em cultura de células suscetíveis, tais como HeLa (célula de carcinoma do colo do útero humano), MRC-5 (fibroblasto de pulmão de embrião humano), Vero (rim de macaco-verde africano), entre outras. Quanto às técnicas moleculares, em razão da rapidez e grande sensibilidade, pode ser utilizada a qPCR para detecção do material genético em espécimes clínicos e cultura de células. O sequenciamento genético é usado para a caracterização dos enterovírus.

Vírus Emergentes e Gastroenterite

Entre os exemplos de vírus emergentes relacionados à gastroenterite viral, podemos citar os bocavírus, vírus Aichi, salivírus, cosavírus e vírus Saffold. Os estudos recentes de metagenômica de quadros clínicos de diarreia vêm permitindo uma ampliação na detecção de novos vírus, por meio da análise do microbioma fecal.

Novos Vírus Associados à Veiculação Hídrica

Os estudos em virologia ambiental têm sugerido outros vírus como indicadores de contaminação ambiental, entre eles: poliomavírus humano JC (eliminado na urina), bacteriófagos colífagos, *pepper mild mottle virus* e o *crAssphage*. O monitoramento ambiental do RNA viral de Sars-CoV-2 também é uma boa ferramenta na virologia ambiental em cidades que apresentam tratamento de esgoto, contribuindo para ações locais direcionadas de contenção e Atenção Primária à Saúde.

Bibliografia
Consultada/Sugerida

FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ (FIOCRUZ). Coleção Saúde, Ambiente e Sustentabilidade. 8 v. Rio de Janeiro: Fiocruz, 2018. (Série Fiocruz Documentos Institucionais). Disponível em: <https://portal.fiocruz.br/colecao-saude-ambiente-e-sustentabilidade>. Acesso em: 10 jul. 2020.

BISHOP, R. F. *et al*. Virus particles in epithelial cells of duodenal mucosa from children with acute non-bacterial gastroenteritis. *The Lancet*, 2(7.841): 1.281-1.283, 1973.

RISI JR., J. B. *Poliomielite no Brasil: do reconhecimento da doença ao fim da transmissão*. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, 2019.

RIVADULLA, E. & ROMALDE, J. L. A comprehensive review on Human Aichi Virus. Virologia Sinica, 35: 501-516, 2020. Disponível em: <doi:10.1007/s12250-020-00222-5>. Acesso em: 10 jul. 2020.

SOUZA, C. M. N. *et al*. Saneamento: promoção da saúde, qualidade de vida e sustentabilidade ambiental. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, 2015.

TIFFREAU, V. *et al*. Post-polio syndrome: pathophysiological hypotheses, diagnosis criteria, drug therapy. *Revista de Saúde Pública*, 40(5): 941-945, 2006.

Hepatite A

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. *Boletim Epidemiológico*, 50(17), 2019.

FIORE, A. E.; WASLEY, A. & BELL, B. P. Prevention of hepatitis A through active or passive immunization: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). *Morbidity and Mortality Weekly Report*, 55(7): 1-23, 2006.

GOEL, A. & AGGARWAL, R. Advances in hepatitis E–II: epidemiology, clinical manifestations, treatment and prevention. *Expert Review of Gastroenterology & Hepatology*, 10(9): 1.065-1.074, 2016.

INTERNATIONAL COMMITTEE ON TAXONOMY OF VIRUSES (ICTV). Site. Disponível em: <https://ictv.global/taxonomy/>. Acesso em: maio 2020.

IORIO, N. & JOHN, S. Hepatitis A. *In*: Stat Pearls. Treasure Island: StatPearls Publishing, 2020.

SANTOS, N. S. O.; ROMANOS, M. T. V. & WIGG, M. D. *Introdução à Virologia Humana*. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008.

THUENER, J. Hepatitis A and B infections. *Primary Care*, 44(4): 621-629, 2017. Disponível em: <doi:10.1016/j.pop.2017.07.005>. Acesso em: 10 jul. 2020.

VAUGHAN, G. *et al*. Hepatitis A virus: host interactions, molecular epidemiology, and evolution. *Infection, Genetics and Evolution*, 21: 227-243, 2014.

VITRAL, C. L.; SOUTO, F. J. D. & GASPAR, A. M. C. Changing epidemiology of hepatitis A in Brazil: reassessing immunization policy. *Journal of Viral Hepatitis*, 15, supl. 2: 22-25, 2008.

WASSENAAR, T. M. *et al*. Comparative genomics of hepatitis A virus, hepatitis C virus, and hepatitis E virus provides insights into the evolutionary history of Hepatovirus species. *Microbiology Open*, 9(2): e973, 2019.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Fact sheets - Hepatitis A. 2020. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/hepatitis-a>. Acesso em: 20 abr. 2020.

YOUNG, H. T. & SON, R. Hepatitis A virus - a general overview. *International. Food Research Journal*, 16: 445-467, 2009.

Hepatite E

CHAUHAN, A.; WEBB, G. & FERGUSON, J. Clinical presentations of Hepatitis E: a clinical review with representative case histories. *Clinics and Research in Hepatology and Gastroenterology*, 43(6): 649-657, 2019. Disponível em: <doi:10.1016/j.clinre.2019.01.005>. Acesso em: 10 jul. 2020.

INTERNATIONAL COMMITTEE ON TAXONOMY OF VIRUSES (ICTV). Site. Disponível em: <https://ictv.global/taxonomy/>. Acesso em: maio 2020.

KENNEY, S. P. & MENG, X. J. Hepatitis E virus genome structure and replication strategy. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 9(1): a031724, 2019. Disponível em: <doi:10.1101/cshperspect.a031724>. Acesso em: 10 jul. 2020.

MELGAÇO, J. G. *et al*. Hepatitis E: update on prevention and control. *BioMed Research International*, 2018.

MENG, X. J. Recent advances in Hepatitis E virus. *Journal of Viral Hepatitis*, 17: 153-161, 2010.

MUSHAHWAR, I. K. Hepatitis e virus: molecular virology, clinical features, diagnosis, transmission, epidemiology, and prevention. *Journal of Medical Virology*, 80: 646-658, 2008.

OLIVEIRA, J. M. N. S. *et al*. Prevalence of hepatitis E virus RNA and antibodies in a cohort of kidney transplant recipients in Central Brazil. *International Journal of Infectious Disease*, 69: 41-43, 2018. Disponível em: <doi:10.1016/j.ijid.2018.01.032>. Acesso em: 10 jul. 2020.

SANTOS, N. S. O.; ROMANOS, M. T. V. & WIGG, M. D. *Introdução à Virologia Humana*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008.

SHRESTHA, M. P. *et al*. Safety and efficacy of a recombinant hepatitis E vaccine. *New England Journal of Medicine*, 356(9): 895-903, 2007.

SIMÕES, R. S. Q. *Virologia Humana e Veterinária*. Rio de Janeiro: Thieme Revinter Publicações, 2018.

SRIDHAR, S. *et al*. Hepatitis E virus genotypes and evolution: emergence of camel Hepatitis E variants. *International Journal of Molecular Sciencies*, 18(4): 869, 2017. Disponível em: <doi:10.3390/ijms18040869>. Acesso em: 10 jul. 2020.

TENGAN, F. M. *et al*. Seroprevalence of hepatitis E in adults in Brazil: a systematic review and meta-analysis. *Infectious Diseases of Poverty*, 8(1): 3, 2019. Disponível em: <doi:10.1186/s40249-018-0514-4>. Acesso em: 10 jul. 2020.

WANG, B. *et al*. Orthohepevirus C: an expanding species of emerging Hepatitis E virus variants. *Pathogens*, 9(3): 154, 2020. Disponível em: <doi:10.3390/pathogens9030154>. Acesso em: 10 jul. 2020.

Rotavírus

BADUR, S. *et al*. Systematic review of the rotavirus infection burden in the WHO-EMRO region. *Human Vaccines & Immunotherapeutics*, 15(11): 2.754-2.768, 2019. Disponível em: <doi:10.1080/21645515.2019.1603984>. Acesso em: 10 jul. 2020.

CARVALHO-COSTA, F. A. *et al*. The evolving epidemiology of rotavirus A infection in Brazil a decade after the introduction of universal vaccination with Rotarix®. *BMC Pediatrics*, 19(1): 42, 2019.

CILLI, A. *et al*. Characterization of rotavirus and norovirus strains: a 6-year study (2004-2009). *Jornal de Pediatria*, 87(5): 445-449, 2011.

HASSO-AGOPSOWICZ, M. *et al*. Global review of the age distribution of rotavirus disease in children aged <5 years before the introduction of rotavirus vaccination. *Clinical Infectious Disease*, 69(6): 1.071-1.078, 2019. Disponível em: <doi:10.1093/cid/ciz060>. Acesso em: 10 jul. 2020.

INTERNATIONAL COMMITTEE ON TAXONOMY OF VIRUSES (ICTV). Site. Disponível em: <https://ictv.global/taxonomy/>. Acesso em: maio 2020.

KNIPE, D. M. *et al*. *Fields Virology*. 6. ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2013.

LEITE, J. P.; CARVALHO-COSTA, F. A. & LINHARES, A. C. Group A rotavirus genotypes and the ongoing Brazilian experience: a review. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 103(8): 745-753, 2008.

NOZAWA, C. M. *et al*. Detection and characterization of human rotavirus in hospitalized patients in the cities of Ponta Grossa, Londrina and Assai - PR, Brazil. *The Brazilian Journal of Infectious Disease*, 14(6): 553-557, 2010.

PEREIRA, L. A. *et al*. Rotavirus infection in a tertiary hospital: laboratory diagnosis and impact of immunization on pediatric hospitalization. *The Brazilian Journal of Infectious Disease*, 15(3): 215-219, 2011.

PRADO, T. & MIAGOSTOVICH, M. P. Virologia ambiental e saneamento no Brasil: uma revisão narrativa. *Cadernos de Saúde Pública*, 30: 1.367-1.378, 2014.

SALVADOR, P. T. *et al*. The rotavirus disease and the oral human rotavirus vaccination in the Brazilian scenario: an integrative literature review. *Ciência & Saúde Coletiva*, 16(2): 567-574, 2011.

TATE, J. E. *et al*. Global, regional, and national estimates of rotavirus mortality in children < 5 years of age, 2000-2013. *Clinical Infectious Diseases*, 62, supl. 2: S96-S105, 2016.

WIGG, M. D. *et al*. *Virologia Humana*. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Saúde, 2015.

Norovírus

AMARASIRI, M. & SANO, D. Specific interactions between human norovirus and environmental matrices: effects on the virus ecology. *Viruses*, 11(3): 224, 2019. Disponível em: <doi:10.3390/v11030224>. Acesso em: 10 jul. 2020.

CAPECE, G. & GIGNAC, E. Norovirus. *In*: StatPearls. Treasure Island: StatPearls Publishing, 2020.

FIORETTI, J. M. *et al*. Genetic diversity of noroviruses in Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 106(8): 942-947, 2011.

FLEWETT, T. H.; BRYDEN, A. S. & DAVIES, H. Letter: virus particles in gastroenteritis. *The Lancet*, 29(7.844): 1.497, 1973.

GAYTHORPE, K. A. M. *et al*. Norovirus transmission dynamics: a modelling review. *Epidemiology Infection*, 146(2): 147-158, 2018. Disponível em: <doi:10.1017/S0950268817002692>. Acesso em: 10 jul. 2020.

INTERNATIONAL COMMITTEE ON TAXONOMY OF VIRUSES (ICTV). Site. Disponível em: <https://ictv.global/taxonomy/>. Acesso em: maio 2020.

KNIPE, D. M. *et al*. *Fields Virology*. 6. ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2013.

LI, J. *et al*. New interventions against human norovirus: progress, opportunities, and challenges. *Annual Review of Food Science and Technology*, 3: 331-352, 2012.

SHAH, M. P. & HALL, A. J. Norovirus illnesses in children and adolescents. *Infectious Disease Clinics of North America*, 32(1): 103-118, 2018. Disponível em: <doi:10.1016/j.idc.2017.11.004>. Acesso em: 10 jul. 2020.

VINJÉ, J. Advances in laboratory methods for detection and typing of norovirus. *Journal of Clinical Microbiology*, 53(2): 373-381, 2015.

Astrovírus

CORTEZ, V. *et al*. Astrovirus biology and pathogenesis. *Annual Review of Virology*, 4: 327-348, 2017.

CORTEZ, V.; MARGOLIS, E. & SCHULTZ-CHERRY, S. Astrovirus and the microbiome. *Current Opinion Virology*, 37: 10-15, 2019. Disponível em: <doi:10.1016/j.coviro.2019.05.002>. Acesso em: 10 jul. 2020.

DE BENEDICTIS, P. Astrovirus infections in humans and animals – molecular biology, genetic diversity, and interspecies transmissions. *Infection, Genetics and Evolution*, 11(7): 1.529-1.544, 2011.

INTERNATIONAL COMMITTEE ON TAXONOMY OF VIRUSES (ICTV). Site. Disponível em: <https://ictv.global/taxonomy/>. Acesso em: maio 2020.

JOHNSON, C. *et al*. Astrovirus pathogenesis. *Viruses*, 9(1): 22, 2017. Disponível em: <doi:10.3390/v9010022>. Acesso em: 10 jul. 2020.

KNIPE, D. M. *et al*. *Fields Virology*. 6. ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2013.

WOHLGEMUTH, N.; HONCE, R. & SCHULTZ-CHERRY, S. Astrovirus evolution and emergence. *Infection, Genetics and Evolution*, 69: 30-37, 2019. Disponível em: <doi:10.1016/j.meegid.2019.01.009>. Acesso em: 10 jul. 2020.

Adenovírus

GAO, J. *et al*. State-of-the-art human adenovirus vectorology for therapeutic approaches. *Febs Letters*, 593(24): 3.609-3.622, 2019. Disponível em: <doi:10.1002/1873-3468.13691>. Acesso em: 10 jul. 2020.

INTERNATIONAL COMMITTEE ON TAXONOMY OF VIRUSES (ICTV). Site. Disponível em: <https://ictv.global/taxonomy/>. Acesso em: maio 2020.

KNIPE, D. M. *et al*. *Fields Virology*. 6. ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2013.

LION, T. Adenovirus persistence, reactivation, and clinical management. *Febs Letters*, 593(24): 3.571-3.582, 2019. Disponível em: <doi:10.1002/1873-3468.13576>. Acesso em: 10 jul. 2020.

MENNECHET, F. J. D. *et al*. A review of 65 years of human adenovirus seroprevalence. *Expert Review Vaccines*, 18(6): 597-613, 2019. Disponível em: <doi:10.1080/14760584.2019.1588113>. Acesso em: 10 jul. 2020.

PEREIRA FILHO, E. *et al*. Adenoviruses associated with acute gastroenteritis in hospitalized and community children up to 5 years old in Rio de Janeiro and Salvador, Brazil. *Journal of Medical Microbiology*, 56(Pt 3): 313-319, 2007.

SCHACHNER, A. *et al*. Fowl adenovirus-induced diseases and strategies for their control - a review on the current global situation. *Avian Pathology*, 47(2): 111-126 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/03079457.2017.1385724>. Acesso em: 10 jul. 2020.

SIMÕES, R. S. Q. *Virologia Humana e Veterinária*. Rio de Janeiro: Thieme Revinter Publicações, 2018.

YAMAMOTO, Y. *et al*. Recent advances in genetic modification of adenovirus vectors for cancer treatment. *Cancer Science*, 108(5): 831-837, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/cas.13228>. Acesso em: 10 jul. 2020.

Enterovírus

BAGGEN, J. *et al*. The life cycle of non-polio enteroviruses and how to target it. *Nature Reviews. Microbiology*, 16(6): 391, 2018.

CHEN, B. S. *et al*. Enterovirus and encephalitis. *Fronters in Microbiology*, 11: 261, 2020. Disponível em: <doi:10.3389/fmicb.2020.00261>. Acesso em: 10 jul. 2020.

FLEWETT, T. H.; BRYDEN, A. S. & DAVIES, H. Letter: virus particles in gastroenteritis. *The Lancet*, 29(7.844): 1.497, 1973.

HARIK, N. & DEBIASI, R. L. Neonatal nonpolio enterovirus and parechovirus infections. *Seminars in Perinatology*, 42(3): 191-197, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1053/j.semperi.2018.02.007>. Acesso em: 10 jul. 2020.

HIXON, A. M. *et al*. Understanding enterovirus D68-induced neurologic disease: a basic science review. *Viruses*, 11(9): 821, 2019. Disponível em: <doi:10.3390/v11090821>. Acesso em: 10 jul. 2020.

INTERNATIONAL COMMITTEE ON TAXONOMY OF VIRUSES (ICTV). Site. Disponível em: <https://ictv.global/taxonomy/>. Acesso em: maio 2020.

KNIPE, D. M. *et al*. *Fields Virology*. 6. ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2013.

RASTI, M.; KHANBABAEI, H. & TEIMOORI, A. An update on enterovirus 71 infection and interferon type I response. *Reviews in Medical Virology*, 29(1): e2016, 2019. Disponível em: <doi:10.1002/rmv.2016>. Acesso em: 10 jul. 2020.

RHINOVÍRUS C. Site sobre a classificação dos enterovírus. Disponível em: <www.picornaviridae.com/enterovirus/rv-c/rv-c.htm>. Acesso em: 12 maio 2020.

RHOADES, R. E. *et al*. Enterovirus infections of the central nervous system. *Virology*, 411(2): 288-305, 2011.

SILVA, E. E.; COSTA, E. V. & SOUZA JR., I. P. *Enterovirus de Importância Médica: fundamentos das doenças infecciosas e parasitárias*. Rio de Janeiro: Elsevier, 2019.

SUN, J.; HU, X. Y. & YU, X. F. Current understanding of human enterovirus D68. *Viruses*, 11(6): 490, 2019. Disponível em: <doi:10.3390/v11060490>. Acesso em: 10 jul. 2020.

SURESH, S.; FORGIE, S. & ROBINSON, J. Non-polio Enterovirus detection with acute flaccid paralysis: a systematic review. *Journal of Medical Virology*, 90(1): 3-7, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/jmv.26364>. Acesso em: 10 jul. 2020.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). *Global Hepatitis Report 2020*. Geneva: WHO, 2020.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). *Guidelines for Drinking-Water Quality: first addendum to the fourth edition*. Geneva: WHO, 2017.

Poliovírus

BAHL, S. *et al*. Global polio eradication – way ahead. *Indian Journal of Pediatrics*, 85(2): 124-131, 2018. Disponível em: <doi:10.1007/s12098-017-2586-8>. Acesso em: 10 jul. 2020.

BANDYOPADHYAY, A. S. *et al*. Polio vaccination: past, present and future. *Future Microbiology*, 10(5): 791-808, 2015. Disponível em: <doi:10.2217/fmb.15.19>. Acesso em: 10 jul. 2020.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Coordenação Geral do Programa Nacional de Imunizações. *Informe Técnico da Introdução da Vacina Inativada Poliomielite*. Brasília: Ministério da Saúde, 2019. Disponível em: <https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_procedimentos_vacinacao.pdf>. Acesso em: maio 2020.

INTERNATIONAL COMMITTEE ON TAXONOMY OF VIRUSES (ICTV). Site. Disponível em: <https://ictv.global/taxonomy/>. Acesso em: maio 2020.

KNIPE, D. M. *et al*. *Fields Virology*. 6. ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2013.

NATHANSON, N. & KEW, O. M. From emergence to eradication: the epidemiology of poliomyelitis deconstructed. *American Journal of Epidemiology*, 172(11): 1.212-1.229, 2009.

VASHISHTHA, V. M. & KAMATH, S. A brief history of vaccines against polio. *Indian Pediatrics*, 53, supl. 1: S20-S27, 2016.

7

Arboviroses com Ênfase nas Transmitidas por Mosquitos

Alexandre dos Santos da Silva • Elba Regina Sampaio de Lemos • Jorlan Fernandes de Jesus • Kerla Joeline Lima Monteiro • Letícia de Paula Scalioni • Livia Melo Villar

Arboviroses

As arboviroses são infecções virais transmitidas por artrópodes. A palavra arbovírus é uma forma abreviada da expressão *arthropod-borne viruses* – *arthropod* (ar) + *borne* (bo) + *virus* – da língua inglesa, que significa vírus transmitidos por artrópodes. As infecções produzidas por essa classe de vírus, que ocorrem em todas as regiões do planeta onde se encontram os artrópodes transmissores, apresentam um amplo espectro clínico, desde infecções assintomáticas, passando por doenças febris, encefalites ou doenças hemorrágicas – caracterizadas por hemorragias de gravidade variável, espontâneas ou pós--traumáticas, em diferentes locais do corpo –, a casos fatais. Os principais artrópodes transmissores desses vírus são os mosquitos e os carrapatos, que habitam principalmente regiões tropicais e temperadas (Quadro 1).

Inflamação do cérebro.

No Brasil, vários arbovírus têm sido identificados como importantes agentes causadores de infeções em humanos. Entre eles, os de maior importância epidemiológica e de impacto para a saúde pública são os vírus da zika, da dengue, da chicungunha e da febre amarela. No Quadro 2, estão descritas as famílias e a distribuição regional dos principais arboví-

Ciência que estuda os fenômenos de saúde/doença e seus fatores condicionantes e determinantes nas populações humanas propondo ações e medidas de prevenção, controle e erradicação de doenças.

rus que circulam no território brasileiro, considerando que a maioria dessas arboviroses apresenta epidemiologia, ciclos de transmissão em ambientes urbanos e início dos sinais clínicos muito semelhantes.

Quadro 1 – Famílias, membros e artrópode transmissor das principais arboviroses no mundo

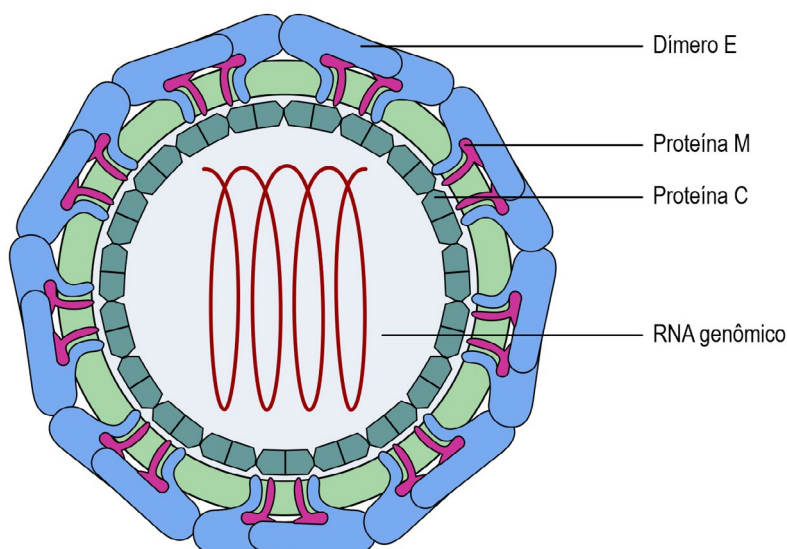
Família	Membros	Artrópode	Distribuição
Nairoviridae	Crimeia-Congo	carrapato	África, Ásia e Europa
Peribunyaviridae	La Crosse	mosquito	América do Norte
	Oropouche	mosquito	Américas do Sul, Central e Caribe
Phenuiviridae	Vale do Rift	mosquito	África, Índia, Oriente Médio
Flaviviridae	Dengue	mosquito	África, Américas, Ásia e Mediterrâneo Oriental
	Encefalite de Saint Louis	mosquito	Estados Unidos e Canadá
	Febre amarela	mosquito	África e Américas
	Zika	mosquito	África, Américas e Ásia
	Encefalite japonesa	mosquito	Ásia
	Nilo Ocidental	mosquito	África, Américas, Ásia, Europa e Oceania
	Floresta Kyasanur	carrapato	Índia
	Febre de Omsk	carrapato	Rússia
Togaviridae	Chicungunha	mosquito	África, Américas, Ásia
	Encefalites equinas (Leste, Oeste e Venezuelana)	mosquito	Américas
	O'nyong-nyong	mosquito	África Subsaariana
	Rio Ross	mosquito	Austrália
	Sindbis	mosquito	Ásia, África, Austrália e Europa

Quadro 2 – Principais arbovírus transmitidos para humanos identificados no Brasil, distribuição geográfica e quadro clínico associado

Família	Vírus	Mosquito vetor	Distribuição geográfica no Brasil	Principais manifestações clínicas
Flaviviridae	Ilhéus	*Aedes, Psorophora* e *Culex*	Norte e Centro-Oeste	encefalite
	Rocio	*Aedes* e *Psorophora*	Norte, Centro-Oeste e Sudeste	encefalite
	Encefalite de Saint Louis	*Culex*	Norte, Centro-Oeste, Sudeste e Sul	encefalite
	Nilo Ocidental	*Culex*	Nordeste e Centro-Oeste	meningite, encefalite, paralisia flácida
	Febre amarela	*Aedes aegypti* e *Aedes albopictus*	Norte, Nordeste, Centro-Oeste, Sudeste e Sul	febre alta, alterações hepáticas, comprometimento renal
	Zika	*Aedes aegypti* e *Aedes albopictus*	Todas as regiões do Brasil	microcefalia, Síndrome de Guillain-Barré
	Dengue	*Aedes aegypti* e *Aedes albopictus*	Todas as regiões do Brasil	dengue com manifestações hemorrágicas, dengue grave
Peribunyaviridae	Oropouche	*Culicoides paraensis*	Norte, Nordeste, Centro-Oeste, Sudeste	febre de Oropouche
Togaviridae	Mayaro	*Haemagogus, Culex, Sabethes* e *Aedes*	Norte, Centro-Oeste, Sudeste	febre do Mayaro
	Encefalite equina do Leste	*Aedes, Coquillettidia* e *Culex*	Todas as regiões do Brasil	encefalite
	Chicungunha	*Aedes*	Todas as regiões do Brasil	artralgia, encefalite

Vírus da Zika

O vírus da zika (ZIKV) é um arbovírus pertencente ao gênero *Flavivirus*, da família *Flaviviridae*. Ele apresenta RNA de fita simples, polaridade positiva e envelope icosaédrico com genoma constituído de aproximadamente 11 mil pares de bases – kilobases (kb) – que codificam dez proteínas: três estruturais – as proteínas do capsídeo (C), da pré-membrana (prM) e do envelope (E) – e sete não estruturais – as proteínas NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B e NS5 (Figura 1).

Figura 1 – Representação esquemática da partícula dos arbovírus da família *Flaviviridae*

Formas de transmissão

O ZIKV é transmitido pela picada de fêmeas de mosquitos infectados, principalmente das espécies *Aedes aegypti e Aedes albopictus*. Ele já foi isolado de várias outras espécies, dentre as quais *Aedes africanus, Aedes apicoargenteus, Aedes luteocephalus, Aedes vitattus, Aedes furcifer* e *Aedes hensilii*.

Considerando que o ZIKV apresenta tropismo para múltiplos tecidos e que está presente em vários fluidos corporais, outras formas de transmissão, além da vetorial, têm sido observadas, como por transfusão de sangue e pelas vias sexual, congênita e perinatal. Assim, a infecção pelo ZIKV em mulheres grávidas pode ocorrer não somente por picada de mosquito, mas também pelo contato sexual com um parceiro infectado. Da mesma forma, a transmissão da mãe para o filho pode acontecer no útero ou durante amamentação. Em relação à transmissão intrauterina, é preciso registrar que a infecção no primeiro trimestre da gravidez está relacionada à síndrome da zika congênita (SCZ), que tem a microcefalia como maior gravidade, além de natimortos e abortos espontâneos. Ainda não está claro se pode haver persistência viral, a ponto de tornar a mãe um reservatório de ZIKV com implicações para a segunda gestação.

Condição neurológica na qual o cérebro de um bebê não se desenvolve adequadamente, fazendo com que a cabeça fique menor que o normal. Pode ser causada por uma variedade de mutações genéticas, lesões cerebrais peri e pós-natais, agentes teratogênicos e infecções congênitas.

Patogenia e manifestações clínicas

Após transmissão pela picada do mosquito, o ZIKV pode infectar diversos tipos celulares, incluindo queratinócitos da pele, fibroblastos da derme e células dendríticas. Em seguida, com a drenagem do sistema linfático e replicação nos linfonodos, ocorre disseminação do ZIKV pela corrente sanguínea e detecção do vírus no sangue. O vírus dissemina-se pela corrente sanguínea com subsequente infecção de células do tecido nervoso central e da placenta, levando à SCZ, além da ocorrência – embora menos frequente – do acometimento ocular e reprodutivo feminino e masculino.

Em humanos, o RNA do ZIKV é detectável no sangue nos primeiros dez dias após a infecção, isto é, no decorrer dos primeiros três a cinco dias após o começo das manifestações clínicas. Durante as primeiras semanas da infecção, verifica-se alta excreção de vírus na urina, na saliva e em outros fluidos corporais. Os anticorpos imunoglobulina M (IgM) anti-zika aparecem a partir do quarto dia de doença, ao passo que os anticorpos da classe imunoglobulina G (IgG) específicos surgem a partir do sétimo dia do início do quadro clínico.

É uma classe de anticorpo produzida em resposta a uma infecção na fase inicial.

Classe de anticorpo produzida em resposta a uma infecção na fase mais tardia.

O período de incubação do ZIKV é de três a 12 dias, seguindo-se normalmente uma doença leve em humanos e, após a primeira exposição, o desenvolvimento de imunidade definitiva. Os pacientes apresentam febre baixa, cefaleia, artralgia, mialgia, anorexia, diarreia, tontura, conjuntivite e exantema, que se inicia na face ou tronco e se dissemina geralmente por todo o corpo, não obstante possa ser focal. Podem ocorrer complicações e manifestações hemorrágicas leves, como petéquias ou sangramento de mucosas, hematospermia, além de distúrbios auditivos. Os pacientes podem também desenvolver a síndrome de Guillain-Barré (SGB), uma doença autoimune grave em que o próprio sistema imunológico passa a atacar as células nervosas, levando à inflamação nos nervos e, consequentemente, à fraqueza e à paralisia muscular. Como observado em outras infecções virais capazes de causar a SGB, a evolução clínica típica dessa síndrome pode levar à rápida evolução do quadro neurológico, potencialmente culminando com uma paralisia grave e irreversível.

Dor de cabeça.

Dores nas articulações.

Falta ou perda de apetite.

Inflamação da conjuntiva.

Pontos de pequeno tamanho e coloração entre vermelho e violeta que aparecem mais comumente na pele.

Lesões cutâneas avermelhadas causadas por dilatação ou inflamação dos vasos sanguíneos.

Presença de sangue no esperma.

Quando transmitida verticalmente, durante a gestação, a infecção pelo ZIKV está associada ao desenvolvimento de más-formações, incluindo a microcefalia. Em geral, os casos de microcefalia são raros (de dois a 12 casos a cada 10 mil nascimentos) e podem ocorrer devido a anormalidades genéticas, exposições ambientais ou infecções congênitas semelhantes às causadas pelo ZIKV, e pelo vírus da rubéola e o citomegalovírus. A microcefalia é a mais grave morbidade encontrada nos recém-nascidos infectados com ZIKV e ocorre, principalmente, quando a mãe é acometida no primeiro trimestre de gravidez. Crianças com microcefalia apresentam diminuição da circunferência da cabeça e retardo no crescimento. Outras alterações patológicas importantes, como calcificação difusa em áreas cerebrais, podem também ser identificadas por meio de exames de imagem, a exemplo da neurossonografia fetal e da ressonância magnética.

Epidemiologia

Identificado pela primeira vez no ano de 1947, em amostras de sangue de macacos rhesus (*Macaca mulatta*) da floresta de Zika, em Uganda, somente em 1968 o ZIKV foi isolado de humanos, na Nigéria. Desde então, o ZIKV manteve-se no nordeste e sudeste da África e, mesmo com uma distribuição geográfica extensa, as infecções humanas pelo ZIKV continuaram esporádicas e limitadas por décadas. Em 2007, o ZIKV causou sua primeira importante epidemia nas Ilhas Yap, na Micronésia, afetando 75% da população. De 2013 a 2015, a linhagem asiática do vírus causou grandes surtos na Nova Caledônia e Polinésia Francesa, que revelaram a associação entre a infecção por ZIKV e o desenvolvimento da SGB.

A partir de 2014, a doença passou a ser identificada nas Américas, com casos na Colômbia, México, Guatemala, Brasil, Paraguai, El Salvador, Bonaire, Samoa, Trinidad e Tobago, Aruba, Sint Maarten, Argentina, Venezuela, e, posteriormente, nos Estados Unidos. O Brasil foi o primeiro país que alertou sobre a associação da infecção pelo vírus a problemas neurológicos em crianças nascidas de mulheres infectadas pelo vírus da zika, incluindo a microcefalia. Essa ligação foi estabelecida por evidências epidemiológicas e isolamento do vírus no cérebro do feto, o que levou a Organização Mundial da Saúde (OMS) a declarar o ZIKV uma Emergência de Saúde Pública de Importância Internacional (ESPII), em fevereiro de 2016. Com a globalização do ZIKV, a transmissão viral previamente autóctone foi detectada e observada em 86 países e territórios até o ano de 2018.

A zika é uma doença de notificação compulsória no Brasil e, desde maio de 2015, as autoridades de saúde pública brasileiras confirmaram a transmissão autóctone do ZIKV na região Nordeste. Em outubro desse mesmo ano, 14 estados já detectavam casos autóctones: Alagoas, Bahia, Ceará, Maranhão, Mato Grosso, Pará, Paraná, Paraíba, Pernambuco, Piauí, Rio de Janeiro, Rio Grande do Norte, Roraima e São Paulo. Em 2016, foram notificados 148.905 casos suspeitos da doença, incluindo três óbitos em Minas Gerais e no Rio de Janeiro. Nesse mesmo período, foram também confirmados 2.063 casos de microcefalia e/ou alteração do sistema nervoso central (SNC), sugestivos de SCZ, além

Aquilo que tem origem no local onde é detectado.

de 171 casos confirmados que evoluíram para óbito fetal ou neonatal por microcefalia e/ou alteração do SNC. Estimativas da OMS apontam para um aumento no número de infecções de grávidas com ZIKV e subsequente ampliação no número de infecções causadas pela transmissão congênita e perinatal por mulheres grávidas, levando a microcefalia congênita e/ou alterações do SNC do feto.

Diagnóstico

O diagnóstico é dificultado pela similaridade do quadro clínico causado por outros arbovírus e pela reatividade cruzada com outros flavivírus. Dessa forma, a confirmação do diagnóstico laboratorial do ZIKV é obtida por meio de testes moleculares para a detecção direta do material genético do vírus no sangue e em outros espécimes biológicos, tais como saliva ou urina.

Técnicas de rotinas laboratoriais para o diagnóstico de ZIKV agudo incluem métodos moleculares para a detecção do RNA de ZIKV no sangue e na urina, além de ensaios imunoenzimáticos ou de imunofluorescência para a identificação de anticorpos das classes IgM e IgG contra o ZIKV. Ensaios de neutralização e isolamento viral em culturas celulares só devem ser realizados em laboratórios de referência especializados. A confirmação de um caso de infecção por ZIKV ocorre apenas na presença de pelo menos um dos critérios seguintes: 1) detecção do RNA do ZIKV ou antígenos virais em uma amostra clínica; 2) isolamento viral de um espécime clínico; 3) detecção dos anticorpos IgM específicos para o ZIKV em amostras do soro com confirmação por teste de neutralização; e 4) soroconversão de anticorpos específicos para o ZIKV em amostras de soro pareadas, ou seja, obtidas em dois períodos distintos do mesmo indivíduo.

Em relação à biologia molecular, a reação em cadeia da polimerase (PCR) pode ser realizada em sangue, urina e saliva, além de fluido amniótico, medula, *swab* faríngeo, sêmen, placenta, biópsias de tecidos coletados *post mortem*. Um teste molecular multiplex em tempo real, que detecta ao mesmo tempo ZIKV, dengue e chicungunha, tem sido utilizado como ensaio que possibilita a identificação de casos de coinfecção em uma única

reação. O sequenciamento de nova geração vem sendo aplicado em pesquisas para caracterização do genoma total de ZIKV em amostras clínicas, como sangue, fluido, líquido amniótico, tecidos cerebrais do feto e placenta.

Vírus da Dengue

O vírus da dengue (DENV) é um arbovírus pertencente à família *Flaviviridae e* ao gênero *Flavivirus*. Sua partícula viral apresenta diâmetro de 40 nm a 60 nm, capsídeo icosaédrico, envelope lipídico e genoma viral composto de um RNA de fita simples de polaridade positiva com aproximadamente 11 kb. O RNA viral funciona como RNA mensageiro e é traduzido em uma poliproteína única, posteriormente clivada em três proteínas estruturais – C, prM e E – e em sete proteínas não estruturais – NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B e NS5. Até o momento, já foram descritos quatro sorotipos: DENV-1, DENV-2, DENV-3 e DENV-4. Entre todos os arbovírus conhecidos, o DENV é considerado o único completamente adaptado aos seres humanos, cuja circulação é mantida em áreas urbanas, especialmente em grandes cidades de países tropicais. Apesar disso, ainda é registrada a existência de ciclos enzoóticos florestais, com a persistência do vírus de forma endêmica entre animais não humanos. Entretanto, estes ciclos não são de grande importância na atual transmissão e disseminação dos vírus.

Doença de animais, peculiar a uma localidade. É o equivalente, em animais, de endemia.

Formas de transmissão

Os vetores do DENV são os mosquitos do gênero *Aedes*. Nas Américas, a espécie *Aedes aegypti* é a responsável pela transmissão; na Ásia, o principal vetor é a espécie *Aedes albopictus*, também presente no Brasil, porém sem comprovação irrefutável de sua participação. A transmissão ocorre pela picada do mosquito infectado em um indivíduo saudável. Não há transmissão por contato direto ou de secreções de um uma pessoa doente para uma sadia, nem de fontes de água ou alimento. A transmissão para o mosquito ocorre enquanto houver presença de vírus no sangue da pessoa infectada, durante o período de viremia, que varia de um dia antes do

aparecimento da febre ao sexto dia da doença. Quanto ao ciclo do vírus da dengue no mosquito, após ingestão de sangue de um indivíduo infectado, o artrópode torna-se capaz, com um período de incubação de oito a 12 dias, de transmitir o vírus a um novo hospedeiro humano.

Patogenia e manifestações clínicas

Após ser inoculado pela picada do mosquito, o DENV realiza sua primeira replicação em células musculares e linfonodos. Os primeiros sintomas estão relacionados aos níveis elevados de citocinas, que são grupos de moléculas envolvidas na emissão de sinais entre as células durante o desencadeamento das respostas imunes. Devido à multiplicação viral no próprio tecido muscular, o paciente apresenta mialgia, além de dor nos músculos oculomotores, evento responsável pela cefaleia retro-orbitária observada na maioria dos casos.

Todos os sorotipos da dengue podem estimular a formação de anticorpos específicos. Por um lado, a imunidade induzida por um sorotipo é apenas parcialmente protetora contra outros sorotipos (imunidade heteróloga ou cruzada) e decai rapidamente. Por outro lado, a imunidade conferida pela infecção do vírus (homóloga) é permanente para o sorotipo que causou a infecção. Dessa forma, são observados dois padrões de respostas à infecção pelo vírus da dengue: primária e secundária. A resposta primária ocorre em pessoas não expostas anteriormente ao vírus (com elevação lenta do título de anticorpos), enquanto a secundária ocorre em pessoas com infecção aguda por dengue, mas que tiveram infecção prévia por outro sorotipo (elevação rápida para níveis bastante altos de anticorpos).

De acordo com a nova classificação recomendada pela OMS, de 2014, os casos suspeitos de dengue passaram a ser definidos como: 1) dengue, 2) dengue com sinal de alarme e 3) dengue grave. Para os casos de dengue, a suspeita decorre da presença de febre por período de dois a sete dias, acompanhada de duas ou mais das seguintes manifestações: náusea, vômitos, exantema, mialgia, artralgia, cefaleia, dor retro-orbital, petéquias, prova do laço positiva

Prova de fragilidade capilar com o objetivo de avaliar a presença de sangramento.

ou leucopenia. A suspeita de dengue com sinais de alarme está presente em pacientes que, no período de declínio da febre, apresentam pelo menos uma das seguintes manifestações clínicas: dor abdominal, vômitos, acúmulo de líquidos, sangramento de mucosa, letargia ou irritabilidade, hipotensão postural e/ou desmaio, hepatomegalia, hemoconcentração. As manifestações clínicas dos casos graves se caracterizam pela presença de choque, sangramento grave e comprometimento do fígado, do SNC (alteração da consciência), coração (miocardite) ou de outros órgãos.

Taxa sanguínea de leucócitos abaixo da normalidade.

Tamanho do fígado aumentado em relação à normalidade.

Inflamação do miocárdio, a camada média do coração.

Epidemiologia

A distribuição dos casos de dengue apresenta um padrão sazonal de incidência coincidente com o verão, clima no qual existe elevação da temperatura e maior ocorrência de chuvas, o que favorece a proliferação de seu vetor. Os casos de dengue são mais comuns nos núcleos urbanos, tendo em vista a maior quantidade de criadouros resultantes da ação antrópica. Porém, a doença pode ocorrer em qualquer local ou região, desde que, além da presença do homem e do vetor, haja a introdução do vírus.

No Brasil, a primeira epidemia comprovada clínica e laboratorialmente ocorreu entre 1981 e 1982, em Boa Vista (RR), e os sorotipos 1 e 4 foram os agentes responsáveis. Desde 1986, quando ocorreram epidemias que atingiram o Rio de Janeiro e algumas capitais da região Nordeste, casos de dengue vêm acontecendo interruptamente, com surtos epidêmicos alternados, geralmente atrelados à introdução de novos sorotipos em áreas anteriormente indenes, ou mesmo à mudança do sorotipo previamente circulante na região.

No surto epidêmico de 1986, que se iniciou no estado do Rio de Janeiro e se disseminou posteriormente para outros seis estados até 1990, o sorotipo circulante foi o DENV-1. Ainda em 1990, um novo sorotipo, o DENV-2, foi identificado novamente no Rio de Janeiro. Dessa forma, na década de 1990 foi possível observar um grande aumento na incidência do vírus da dengue no território nacional, principalmente em razão da dispersão de

Aedes aegypti que, associada à mobilidade populacional, levou à dispersão dos sorotipos 1 e 2 para vinte dos 27 estados do país.

Posteriormente, em dezembro de 2000, com a identificação do DENV-3 no Rio de Janeiro e depois no estado de Roraima, em 2001, esse sorotipo viral dispersou-se rapidamente para os outros estados, com a notificação de aproximadamente 697 mil casos em 2002. Dois anos depois, 23 dos 27 estados do país já apresentavam a circulação, ao mesmo tempo, dos sorotipos 1, 2 e 3.

A partir de 2006, alguns estados vivenciaram a reintrodução do sorotipo 2, evento que levou a um aumento no número de casos graves, principalmente no Nordeste do país. Em 2008, a população brasileira sofreu o pior cenário de novas epidemias relacionadas ao DENV-2, considerando a ocorrência de casos graves em crianças com representatividade de mais de 50% dos casos registrados de internação.

Diagnóstico

Medida do volume ocupado pelos glóbulos vermelhos em uma amostra de sangue com relação ao seu volume total, expresso em porcentagem.

Sigla do inglês para *enzyme-linked immuno sorbent assay*, um teste sorológico que utiliza a reação enzimática (enzima – proteínas que regulam as reações químicas do organismo).

Técnica diagnóstica realizada em tecido de biópsia e necropsia que permite a identificação de marcadores tanto para câncer como para doenças infecciosas.

Como as manifestações clínicas são semelhantes às de outras arboviroses, o diagnóstico diferencial é fundamental. Há exames inespecíficos, como hematócrito, contagem de plaquetas e dosagem de albumina, importantes para o diagnóstico e o acompanhamento dos pacientes com dengue, especialmente os que apresentam sinais de alarme e sangramento. Para indivíduos em situações especiais, como crianças, gestantes e idosos (>65 anos), o diagnóstico laboratorial específico pode ser confirmado por: pesquisa de anticorpos por testes sorológicos (Elisa, do inglês *enzyme-linked immunosorbent assay*); pesquisa do vírus (isolamento viral); pesquisa do genoma – transcrição reversa seguida de reação em cadeia da polimerase (RT-PCR); pesquisa de antígeno NS1; ou, ainda, estudo anatomopatológico seguido de pesquisa de antígenos virais por imuno-histoquímica.

A sorologia é o método de rotina utilizado para o diagnóstico da dengue. Os anticorpos da classe IgM começam a ser

detectáveis a partir do sexto dia após o início dos sintomas. Em infecções em que o paciente já tenha sido acometido por outro sorotipo, essa detecção é possível desde o segundo ou terceiro dia. Em uma infecção primária, os anticorpos da classe IgG podem ser detectados nove dias após o início dos primeiros sintomas e no primeiro dia nas infeções secundárias. Além disso, esses anticorpos permanecem detectáveis por vários anos e conferem imunidade ao sorotipo causador da infecção. A detecção do antígeno viral NS1 através do teste rápido, importante para casos nos quais se precisa estabelecer o diagnóstico o mais rápido possível, acontece nos primeiros três dias dos sintomas e indica a doença na fase aguda. É importante ressaltar que o resultado negativo pelo teste rápido não exclui a possibilidade de que o indivíduo esteja infectado.

Febre Amarela

O vírus da febre amarela (FA) pertence ao gênero *Flavivirus* e à família *Flaviviridae*. É um vírus com um único sorotipo descrito: envelopado, com aproximadamente 40 nm a 50 nm, constituído por um genoma RNA de fita simples não segmentado, polaridade positiva, com cerca de 11 kb de comprimento e 10.862 nucleotídeos que codificam a formação de proteínas virais. As proteínas estruturais codificam a formação da estrutura viral dando origem a prM, C e E, e as proteínas não estruturais, como a NS1, NS3, NS4A, NS4B e NS5, estão associadas à patogenicidade e à virulência, entre outras atividades de regulação e expressão viral.

Formas de transmissão

A FA é transmitida pela picada da fêmea de mosquitos infectados em áreas urbanas ou silvestres. No ciclo silvestre, os principais vetores da FA são os mosquitos dos gêneros *Haemagogus* e *Sabethes*, nas Américas, e *Aedes* spp., na África; no meio urbano, o transmissor é apenas o mosquito *Aedes aegypti*. A infecção ocorre quando um indivíduo saudável, que nunca teve contato com o vírus ou que não tenha sido vacinado, circula em região silvestre (como florestas) e é picado por um mosquito infectado.

Em adição, esse indivíduo, após ser infectado, é capaz de circular em centros urbanos, eventualmente pode ser picado pelo *Aedes aegypti* e disseminar a doença, seguindo o ciclo: homem → mosquito → homem → mosquito. No entanto, o Brasil não registra casos humanos de FA urbana desde 1942. O vírus tem potencial de infectar também outros vertebrados, como primatas não humanos (PNH), mantendo os ciclos silvestre e urbano sem a participação da população humana. Os PNHs, por sua vez, assim como o homem, podem ser infectados pelo vírus e não apresentar manifestação clínica, mas com viremia suficiente para infectar outros mosquitos. Não ocorre transmissão de pessoa a pessoa.

Patogenia e manifestações clínicas

Inicialmente, o vírus penetra através da pele, após ser inoculado pelo mosquito, replicando-se nos nódulos linfáticos e disseminando-se, posteriormente, pela corrente sanguínea para outros órgãos, tais como fígado, rins, medula óssea, SNC, coração, pâncreas, baço e gânglios linfáticos, onde se replica e causa necrose celular. Embora a replicação viral com lesão ocorra de forma mais proeminente no tecido renal, com grande destruição de células parenquimatosas, é possível observar expressiva lesão hepática.

Células responsáveis pela função dos diferentes órgãos e tecidos como as células que constituem o fígado ou rim, por exemplo.

Com um período de incubação médio de quatro a cinco dias, a infecção pelo vírus da FA pode causar desde uma infecção assintomática a formas oligossintomáticas e, menos frequentemente, formas graves e malignas de elevada letalidade. Pacientes com a forma leve apresentam quadro clínico inespecífico, caracterizado por febre moderada de início súbito, associada ou não com cefaleia, astenia, tonteira e indisposição que dura em torno de 48 horas, com recuperação total do paciente. Quanto aos indivíduos com a forma moderada, eles podem evoluir de forma mais insidiosa, com cefaleia e febre persistentes associadas a náuseas, vômitos, artralgia e mialgia. Ainda que, ocasionalmente, o paciente possa apresentar epistaxe e subicterícia, o prognóstico é favorável com recuperação clínica. Em torno de 5% dos pacientes evoluem para formas graves, que se

Fraqueza, cansaço.

Perda de sangue pelo nariz, proveniente da mucosa nasal, mais comumente, da região anterior.

caracterizam por febre elevada – com o sinal de Faget –, cefaleia intensa, náuseas e vômitos associados a mialgia generalizada, além de icterícia, albuminúria e comprometimento renal por um período de cinco a sete dias, com possibilidade de evoluir para quadro hemorrágico.

Febre que não é acompanhada de elevação da pulsação.

Caracteriza-se pela presença de albumina na urina e é um forte indicador de disfunções renais.

A forma maligna, de elevada letalidade, que acomete em torno de 5% a 6% dos pacientes, caracteriza-se por um quadro de insuficiência hepato-renal com icterícia intensa e evolui com manifestações hemorrágicas como melena, epistaxe, hematêmese, hematúria, petéquias, hematomas, gengivorragia, hemorragia gastrointestinal, entre outras complicações. Na maioria das vezes, observam-se duas fases da doença separadas por um curto período de remissão, em que o paciente tem uma sensação de melhora, com redução da febre. Na primeira fase, quando ocorre viremia, o indivíduo apresenta um quadro clínico inespecífico, correspondente às formas leves e moderadas. Contudo, após o período de remissão, que pode durar de algumas horas a dois dias, as manifestações clínicas intensificam-se e o paciente piora abruptamente.

Presença de sangue nas fezes.

Sangue visível no vômito indicando hemorragia no aparelho digestivo superior (esôfago, estômago ou da primeira parte do intestino delgado).

Presença anormal de eritrócitos (glóbulos vermelhos) na urina.

Inicia-se a fase toxêmica da doença, em que a viremia é substituída pela localização do vírus em órgãos e tecidos, principalmente fígado e baço, com o retorno da febre alta associada a dor epigástrica, diarreia e vômito, que pode ser hemorrágico. O quadro agrava-se quando há comprometimento hepático, caracterizado por intensa icterícia e elevação das transaminases hepáticas que, associado com insuficiência renal e hemorragia, torna o prognóstico desfavorável, principalmente com o surgimento da encefalopatia – caracterizada por sonolência, confusão mental, torpor, convulsão –, da insuficiência respiratória e do coma, eventos que culminam, frequentemente, em óbito.

Epidemiologia

O vírus da FA é mantido por três ciclos de transmissão: 1) Ciclo enzoótico, silvestre, que depende do PNH – considerado hospedeiro vertebrado

amplificador primário – e das espécies de mosquitos silvestres *Haemagogus* spp. e *Sabethes* spp., em que o homem é tido como um hospedeiro acidental; 2) Ciclo urbano, controlado no Brasil, que envolve a transmissão entre humanos e mosquitos da espécie *Aedes Aegypti*; e 3) Ciclo rural ou intermediário, descrito apenas na África, com a participação dos PNHs semidomésticos. É importante registrar que não há, no Brasil, indicativo de urbanização da FA e que todos os casos são decorrentes da expansão do vírus no ciclo silvestre.

A FA silvestre é uma zoonose endêmica nas regiões tropicais e acomete o homem acidentalmente em 47 países, dos quais 34 na África e 13 nas Américas Central e do Sul, onde se apresenta na forma de surtos com intervalos – em geral de 7 anos –, com epizootias em PNH que precedem o aparecimento nos humanos, eventos que torna esses primatas alvo de vigilância epidemiológica. No Brasil, o evento-sentinela tem sido monitorado pelo Sistema de Vigilância de Epizootias em Primatas Não Humanos (SVEPNH), instituído pelo Ministério da Saúde (MS) no fim da década de 1990, tornando possível a detecção mais ágil da circulação viral para subsequente aplicação de medidas de controle, em tempo oportuno, evitando, assim, uma epidemia de FA.

Doença ocasional em animais, que se dissemina com rapidez. É o equivalente, em animais, de epidemia.

Nas duas últimas décadas, foram registradas, no território brasileiro, transmissões de FA além dos limites amazônicos (região endêmica). Novos registros de epizootias e casos humanos ocorridos na Bahia, em Minas Gerais, em São Paulo, no Paraná e no Rio Grande do Sul representaram a maioria das notificações de FA no período. Eles caracterizam o avanço da área de circulação do vírus, novamente percorrendo os caminhos de dispersão nos sentidos sul e leste do país, aproximando-se de grandes regiões metropolitanas densamente povoadas. Assim, diante dessa dispersão do vírus para a costa leste brasileira, além de ampliar a vacinação para regiões que não faziam parte das áreas de recomendação vacinal, o MS iniciou, em novembro de 2017, o monitoramento sazonal da FA, com a publicação de boletins semanais contendo a atualização dos casos humanos e as epizootias notificadas no país. Adicionalmente, com o objetivo de auxiliar o SVEPNH na vigilância e no monitoramento da FA no território

nacional, a Fiocruz desenvolveu o sistema do Centro de Informação em Saúde Silvestre (CISS-Geo), um aplicativo internacionalmente reconhecido que passou a ser utilizado – com a participação ativa da sociedade – para mapear a morte de macacos pelo vírus da FA. Tornou-se possível, dessa forma, traçar as rotas de dispersão espacial do vírus.

De tempos em tempos, a FA silvestre reemerge no Brasil, produzindo surtos de magnitude e extensão variáveis. Os maiores surtos da história da FA silvestre no país, desde a década de 1930, quando o ciclo foi descrito, ocorreram nos intervalos de 2016-2017 e 2017-2018. Nesses períodos, foram registrados cerca de 2,1 mil casos e mais de 700 óbitos pela doença. Mais recentemente, durante o monitoramento de 2018-2019, o vírus foi detectado em áreas de São Paulo, Paraná e Santa Catarina, estados que não registravam a circulação do vírus há décadas. Um aspecto interessante observado nesse surto foi a identificação de mutações inéditas no vírus da FA que, embora presentes, comprovadamente não interferem na eficácia da vacina.

Casos de FA também foram observados na Região Amazônica, sinalizando a circulação ativa do vírus na área endêmica e o risco de novas introduções no Centro-Oeste, pela área correspondente à bacia hidrográfica do Tocantins-Araguaia. No monitoramento 2019-2020, iniciado em julho de 2019, foram detectados vírus entre PNH durante os meses que antecederam o verão, em especial a partir de novembro de 2019. Esses dados deram indícios de que sua dispersão pelos corredores ecológicos, estimados com base nos dados de ocorrência do período anterior, se concretizaria durante o período sazonal (dezembro a maio). De fato, foi possível verificar que, nesse mesmo período, foram notificados 503 casos humanos suspeitos em todas as regiões do país. A observação de um padrão sazonal de ocorrência de casos humanos, pela avaliação da série histórica, deu suporte à adoção da estratégia de vigilância baseada na sazonalidade. Logo, o período anual de monitoramento da FA inicia-se em julho e encerra-se em junho do ano seguinte, o que possibilita analisar os processos de transmissão nos períodos sazonais (dezembro a maio) e realizar estudos à luz das especificidades de cada evento.

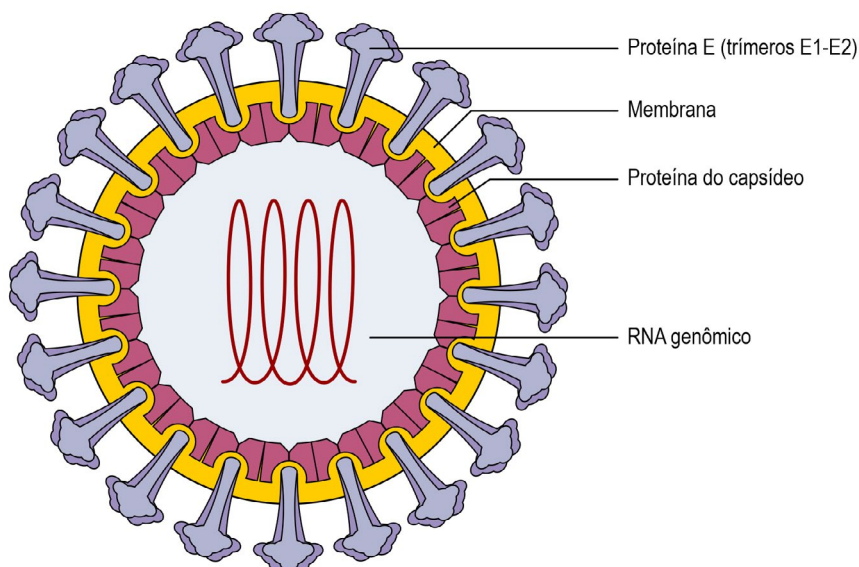
Diagnóstico

O diagnóstico clínico da FA deve ser realizado com outras doenças infecciosas febris agudas semelhantes, associadas a dano do fígado e rins e manifestações hemorrágicas. Entre essas doenças, devem ser descartadas febres hemorrágicas por *Mammarenavirus* (Sabiá e Junín, por exemplo), dengue, hepatites virais, febre maculosa, malária, leptospirose, entre outras. Além dos testes inespecíficos, como o hemograma e a bioquímica com aumento das enzimas hepáticas, da ureia e da creatinina, o diagnóstico específico da FA deve ser realizado por teste sorológico como Elisa (mais utilizado na rotina), inibição da hemaglutinação, fixação do complemento e neutralização. O diagnóstico direto pode ser feito com base na pesquisa da detecção do ácido nucleico viral (RT-PCR) ou do isolamento viral utilizando amostras de sangue total ou soro, coletadas até o quarto dia da doença e inoculadas em células animais, culturas de células de mosquito ou inoculação em camundongos recém-nascidos.

Teste de laboratório que utiliza hemácia para identificar a presença de moléculas relacionadas à infecção ou ao tipo sanguíneo, por exemplo.

Chicungunha

O vírus da chicungunha (CHIKV), classificado na família *Togaviridae*, gênero *Alphavirus*, apresenta uma partícula envelopada, de simetria icosaédrica, de polaridade positiva, com um genoma RNA de fita simples de aproximadamente 12 kb, que codifica quatro proteínas não estruturais – nsP1 a nsP4 – e cinco proteínas estruturais – C, E3, E2, 6K e E1 (Figura 2). Por meio de análises filogenéticas dos genes de E1, foi possível identificar três genótipos do vírus: Asiático, do Oeste da África e o denominado Leste-Central-Sul-Africano (ECSA, do inglês *East, Central and South African*). No gênero *Alphavirus*, estão classificados 28 vírus conhecidos, entre eles o vírus Mayaro, de importância no Brasil, além dos vírus do Rio Ross e O'nyong-nyong.

Figura 2 – Representação esquemática dos arbovírus da família *Togaviridae*

Formas de transmissão

A transmissão do CHIKV ocorre pela picada da fêmea dos mosquitos infectados, não existindo transmissão entre pessoas. Também não há evidências de que o CHIKV seja transmitido da mãe para o feto, pois raramente esse vírus é transmitido ao recém-nascido durante o parto. Até o momento, não existem dados de transmissão pelo aleitamento. Nos ciclos urbanos, as espécies de vetores responsáveis pela transmissão são *Aedes aegypti*, na África, nas Américas e na Ásia, e *Aedes albopictus*, na Europa e nas ilhas do oceano Índico; a espécie *Aedes hensilli* já foi envolvida como vetor no surto ocorrido na Micronésia. A manutenção dos ciclos enzoóticos da infecção se dá entre mosquitos e PNHs durante períodos interepidêmicos na África. Em contraste, na Ásia, a manutenção da transmissão ocorre entre mosquitos e humanos.

Patogenia e manifestações clínicas

O vírus replica-se primeiramente nos fibroblastos da pele após a picada do mosquito. Somente fibroblastos da pele têm demonstrado ser

suscetíveis à infecção ao CHIKV entre vários tipos de células. Uma vez replicado na pele, o vírus dissemina-se pelo sangue e replica-se no fígado, nas articulações, nos linfonodos, no cérebro e nos músculos. Durante a replicação viral, há produção de várias citocinas, quimiocinas e fatores de crescimento, dentre os quais se destacam a interleucina-6 (IL-6) e o fator de necrose tumoral alfa (TNF-α), principais mediadores do quadro de artrite. Isso explica o comprometimento articular observado em alguns pacientes infectados pelo CHIKV, considerando a semelhança com a fisiopatogenia da artrite reumatoide.

A apresentação clínica da chicungunha é similar à da dengue e da zika e representa um grande desafio para os médicos, principalmente em períodos quando as três arboviroses estão ocorrendo ao mesmo tempo. No entanto, estudos demonstram que as infecções por DENV e ZIKV são assintomáticas em cerca de 75% e 62% dos indivíduos, respectivamente. Por outro lado, as infecções por CHIKV são sintomáticas na maioria das pessoas infectadas (72% a 95%), e normalmente começam entre três e sete dias após a picada de um mosquito infectado.

Na fase aguda, de início abrupto, normalmente nesse período de três a sete dias após a picada do mosquito infectado, ocorrem manifestações clínicas caracterizadas pela presença de febre (>39 °C em 92% dos casos), acompanhada de artralgia em 87% dos pacientes. Outras manifestações comuns são a cefaleia, fadiga, mialgia, edema, erupção cutânea macular ou maculopapular, náuseas, vômitos e dor abdominal. Alterações oculares como fotofobia, dor retro-orbital e conjuntivite também podem ocorrer, assim como complicações neurológicas caracterizadas por inflamação e/ou infecção do cérebro. A maioria dos pacientes recupera-se plenamente; entretanto, em alguns casos, a artralgia pode persistir por várias semanas ou até meses. A fase crônica é apresentada pela continuação ou recaída da dor nas articulações, que leva à perda da produtividade do paciente em decorrência do quadro persistente e incapacitante de artralgia, com grande impacto não somente sob o ponto de vista de saúde, mas também econômico e social.

Epidemiologia

O nome chicungunha – forma aportuguesada de *chikungunya*, da língua maconde, falada por grupo étnico homônimo, entre Tanzânia e Moçambique – quer dizer “tornar-se contorcido” e refere-se à aparência curvada dos doentes devido às dores nas articulações. A infecção pelo CHIKV foi descrita pela primeira vez após um surto no sul da Tanzânia em 1952-1953 sendo, desde então, identificada em várias regiões dos continentes africano e asiático. A doença foi descrita inicialmente na África, na Ásia e no subcontinente indiano, onde os primeiros surtos urbanos mais significativos foram documentados no início dos anos 1960, em Bangkok, e de 1963 a 1973, na Índia. Surtos menores ocorreram periodicamente ao longo dos trinta anos seguintes. Em 2004, houve a emergência do vírus durante uma epidemia na costa do Quênia e, a partir de fevereiro de 2005, um surto da doença ocorreu em ilhas do oceano Índico (Reunião, Madagascar, Maurício, Seychelles e Mayotte). Outros surtos ocorreram na Índia, em 2006, e em 2007, no Gabão. No mesmo ano de 2007, o CHIKV foi importado para a Europa, causando um surto na Itália – sugerindo, pela primeira vez, o importante potencial de dispersão mundial do vírus.

No fim de 2013, um surto da doença iniciou-se pela primeira vez nas Américas e nas ilhas do Caribe. Desde então, até o ano de 2015 o vírus havia sido identificado em 26 ilhas e 14 países do continente. Cerca de 1,7 milhão de casos foram relatados em 45 países ou territórios até 2015 e reportados à Organização Pan-Americana da Saúde (Opas). Na América do Sul, os primeiros casos foram notificados em dezembro de 2013, na Guiana Francesa; posteriormente, em fevereiro de 2015, detectados na Bolívia, na Colômbia, no Equador, na Guiana Francesa, na Guiana, no Paraguai, no Suriname, na Venezuela e no Brasil. No Brasil, a doença espalhou-se rapidamente para todo o território nacional a partir da região Nordeste.

Diagnóstico

As similaridades clínicas e epidemiológicas com outras arboviroses dificultam muito o diagnóstico clínico da infecção pelo CHIKV. Contudo, infecções por CHIKV são confirmadas pela detecção do vírus, do RNA

viral ou dos anticorpos específicos para CHIKV em amostras infectadas. As técnicas sorológicas incluem ensaios imunoenzimáticos como Elisa, imunofluorescência, testes de neutralização e hemaglutinação. O isolamento do CHIKV é feito por coleta de soro em até sete dias desde o início das manifestações da doença. O vírus pode ser isolado de cultura de células de mamíferos ou insetos (Vero e C6/36). A PCR convencional e a RT-PCR são realizadas tendo como alvo os genes estruturais e não estruturais do envelope do CHIKV. O sequenciamento do DNA pode ser utilizado junto com a RT-PCR para identificar o genótipo correspondente.

Outros Arbovírus

Apesar da menor relevância sob o ponto de vista da saúde pública, quando comparados com os principais arbovírus, apresentamos a seguir breves comentários sobre os vírus Mayaro, Oropouche, Rocio, o vírus do Nilo Ocidental e o vírus da encefalite de Saint Louis.

Mayaro

A febre do Mayaro é uma doença infecciosa febril aguda, causada pelo vírus Mayaro, pertencente à família *Togaviridae*, gênero *Alphavirus* – transmitido pelo mosquito *Haemagogus janthinomys* e considerado emergente no bioma da floresta amazônica. O vírus causa um quadro clínico semelhante à chicungunha, cujas principais manifestações clínicas são febre elevada com duração de quatro a cinco dias, cefaleia, erupções cutâneas, mialgia e artralgia, sintomatologia essa que, em alguns indivíduos pode persistir por mais de seis meses.

O homem infecta-se acidentalmente ao adentrar no ambiente silvestre, onde o ciclo é mantido entre o vetor e os animais silvestres, levando à consequente dispersão do vírus para áreas rurais e urbanas com participação de animais domésticos e de outros artrópodes vetores. De ocorrência predominante em regiões que apresentam clima tropical com períodos longos de chuva, a doença apresenta-se em casos esporádicos e isolados, ou em surtos.

Com base na descrição do primeiro surto no Brasil, em 1955, no Pará, casos isolados e surtos têm sido registrados principalmente nos estados das regiões Norte e Centro-Oeste. Desde 2017, a febre do Mayaro compõe a lista nacional de doenças de notificação compulsória.

O diagnóstico laboratorial é realizado com base no teste sorológico, considerando a dificuldade de interpretação do resultado diante da circulação de chicungunha, além do isolamento e da análise molecular. A investigação deve ser feita na fase precoce da doença, especialmente até o quinto dia após o início do quadro clínico, período que corresponde a maior viremia.

Oropouche

O vírus Oropouche, um arbovírus pertencente à família *Peribunyaviridae*, transmitido pelo mosquito *Culicoides paraensis*, apresenta ciclo de transmissão tanto silvestre quanto urbano. Identificado no Brasil desde a década de 1960, e de ocorrência prevalente na região da Amazônia Legal, é o agente da febre de Oropouche, uma doença febril aguda semelhante a outras arboviroses, mas que pode evoluir com meningite e meningoencefalite. Considerada uma virose subdiagnosticada, a confirmação diagnóstica pode ser realizada por testes laboratoriais que empreguem técnicas sorológicas, moleculares e isolamento viral.

Inflamação aguda das membranas protetoras que revestem o cérebro e a medula espinhal, denominadas coletivamente de meninges.

Inflamação do tecido nervoso central envolvendo o cérebro, a medula espinhal e as membranas que revestem.

Rocio

O vírus Rocio é um flavivírus isolado pela primeira vez em 1975, em tecido cerebral de um paciente que faleceu durante uma epidemia de encefalite em São Paulo. Embora seja considerada, atualmente, uma virose silenciosa, entre 1973 e 2000 foram identificados mais de 1.200 casos de encefalite pelo vírus Rocio, com letalidade de 10%.

Em relação ao ciclo de manutenção do vírus, estudos apontam a participação dos vetores dos gêneros *Psorophora* e *Aedes*. As aves têm sido sugeridas como hospedeiros amplificadores e os animais domésticos, em especial os equinos, vêm sendo utilizados como sentinelas.

Vírus do Nilo Ocidental

Detectado pela primeira vez no continente americano em 1999, esse flavivírus está associado a quadros neurológicos tanto em humanos quanto em aves, seus potenciais hospedeiros amplificadores e mantenedores do ciclo de transmissão. A primeira evidência da presença do vírus no Brasil ocorreu em 2011, no Mato Grosso do Sul, onde foram identificados equinos sororreativos pelo teste de neutralização. No entanto, somente em 2014 foi identificado, com base em dado clínico-epidemiológico associado com evidência sorológica, o primeiro caso humano, no Piauí. A confirmação, baseada em isolamento e caracterização viral, só ocorreu em 2018, em amostra de tecido nervoso de equino com quadro neurológico no estado do Espírito Santo. A análise molecular pelo sequenciamento nucleotídico confirmou tratar-se da linhagem que circula comumente no continente americano.

Vírus da encefalite de Saint Louis

Inicialmente identificado nos Estados Unidos, em amostra de tecido nervoso de um caso fatal em 1933, o flavivírus da encefalite de Saint Louis é transmitido principalmente por mosquitos do gênero *Culex*, com participação das aves no ciclo enzoótico. Com evidência sorológica de circulação no território brasileiro desde os anos 1950, a identificação viral pelo isolamento em amostra humana somente ocorreu pela primeira vez na década de 1980, no Pará, e posteriormente, em 2005, no estado de São Paulo.

Bibliografia
Consultada/Sugerida

Aspectos gerais das arboviroses

BANDA, C. & SAMANTA, D. *Eastern Equine Encephalitis*. Treasure Island: StatPearls, 2020.

BRUYCKER-NOGUEIRA, F. R. *et al*. Arboviruses in the context of large-events. *Virus Reviews & Research*, 21(2), 2016.

GANJIAN, N. & RIVIERE-CINNAMOND, A. Mayaro virus in Latin America and the Caribbean. *Revista Panamericana de Salud Publica*, 44: e14, 2020.

KRAEMER, M. U. G. *et al*. The global distribution of the arbovirus vectors *Aedes aegypti* and *Ae. albopictus. E Life*, 4: e08347, 2015.

MEDEIROS, D. B. *et al*. Complete genome characterization of Rocio virus (Flavivirus: Flaviviridae), a Brazilian flavivirus isolated from a fatal case of encephalitis during an epidemic in Sao Paulo state. *The Journal of General Virology*, 88(Pt 8): 2.237-2.246, 2007.

OMETTO, T. *et al*. West Nile virus surveillance, Brazil, 2008-2010. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 107(11): 723-730, 2013.

ROMERO-ALVAREZ, D. & ESCOBAR, L. E. Oropouche fever, an emergent disease from the Americas. *Microbes and Infection*, 20(3): 135-146, 2018.

Zika

BESNARD, M. *et al*. Evidence of perinatal transmission of Zika virus, French Polynesia, December 2013 and February 2014. *Euro Surveillance: Bulletin Europeen sur les Maladies Transmissibles = European Communicable Disease Bulletin*, 19(13): 20.751, 2014

BLOHM, G. M. *et al*. Evidence for mother-to-child transmission of Zika Virus through breast milk. *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*, 66(7): 1.120-1.121, 2018.

BRASIL. Ministério da Saúde. Monitoramento dos casos de arboviroses urbanas transmitidas pelo Aedes aegypti (dengue, chikungunya e zika). Semanas Epidemiológicas 1 a 18, 2020. Disponível em: <https://portalarquivos.saude.gov.br/images/pdf/2020/May/08/Boletim-epidemiologico-SVS-19.pdf>. Acesso em: 19 maio 2020.

CAO-LORMEAU, V. M. *et al.* Guillain-Barre Syndrome outbreak associated with Zika virus infection in French Polynesia: a case-control study. *The Lancet*, 387: 1.531-1.539, 2016.

CARTEAUX, G. *et al.* Zika Virus Associated with Meningoencephalitis. *The New England Journal of Medicine*, 374: 1.595-1.596, 2016.

DICK, G. W.; KITCHEN, S. F. & HADDOW, A. J. Zika virus. I. Isolations and serological specificity. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 46: 509-520, 1952.

ENFISSI, A. *et al.* Zika virus genome from the Americas. *The Lancet*, 387: 227-228, 2016.

FATIMA, V. A. M. *et al.* Clinical features and neuroimaging (CT and MRI) findings in presumed Zika virus related congenital infection and microcephaly: retrospective case series study. *BMJ*, 353: i1901, 2016.

GOURINAT, A. C. *et al.* Detection of Zika virus in urine. *Emerging Infectious Disease*, 21: 84-86, 2015.

GRISCHOTT, F. *et al.* Non-vector-borne transmission of Zika virus: a systematic review. *Travel Medicine and Infectious Disease*, 14(4): 313-330, 2016.

ORGANIZAÇÃO PANAMERICANA DA SAÚDE (OPAS). Zika – Atualização Epidemiológica – 9 de junho de 2016. Disponível em: <www.paho.org/bra/images/stories/SalaZika/boletim%20013.pdf?ua=1>. Acesso em: 19 maio 2020.

PETERSEN, L. R.; JAMIESON, D. J. & HONEIN, M. A. Zika virus. *The New England Journal of Medicine*, 375, 294-295, 2016.

TEIXEIRA, F. M. E. *et al.* Maternal-Fetal interplay in Zika virus infection and adverse perinatal outcomes. *Frontiers in Immunology*, 11: 175, 2020.

Dengue

BRASIL. Ministério da Saúde. Balanço dengue janeiro a abril de 2012. Disponível em: <http://portalsaude.saude.gov.br/portalsaude/arquivos/ap_balnco_dengue.pdf>. Acesso em: 5 maio 2022.

BRASIL. Ministério da Saúde. Boletim 1/2012 – Dengue: situação epidemiológica. Disponível em: <http://portalsaude.saude.gov.br/portalsaude/index.cfmportal=pagina.visualizarTexto&codConteudo= 6407&codModuloArea=783&chamada=boletim-1/2012-_-dengue:-situacao%20%20epidemiologica>. Acesso em: 5 maio 2022.

BRASIL. Ministério da Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. *Dengue Diagnóstico e Manejo Clínico Adulto e Criança*. 5. ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2016.

GUBLER, D. J. Dengue and dengue hemorrhagic fever: its history and resurgence as a global health problem. *In*: GUBLER, D. & KUNO, G. (Eds.). *Dengue and Dengue Hemorrhagic Fever*. New York: CAB International, 1997.

PONTES, R. J. S. & RUFFINO-NETTO, A. Dengue em localidade urbana da região sudeste do Brasil: aspectos epidemiológicos. *Revista de Saúde Pública*, 28(3): 218-227, 1994.

TORRES, E. M. A transmissão. *In*: TORRES, E. M. *Dengue y Dengue Hemorrágico*. Buenos Aires: Editora da Universidad Nacional de Quilmes, Laboratório Elea, 1998.

WORLD HEATH ORGANIZATION (WHO). *Prevention and Control of Dengue and Dengue Haemorraghic Fever: comprehensive guidelines*. New Delhi: Regional office for South-East Asia World Health Organization, 1999.

Febre amarela

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Guia de Vigilância Epidemiológica em Febre Amarela 2008. Disponível em: <http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/gve_7ed_web_atual_febre_amarela.pdf>. Acesso em: 5 maio 2022.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Situação epidemiológica da febre amarela no monitoramento 2019/2020. Boletim Epidemiológico v. 51, jan. 2020. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/centrais-de-conteudo/publicacoes/boletins/epidemiologicos/edicoes/2020/boletim-epidemiologico-vol-51-no-01>. Acesso em: 25 março 2023.

BRASIL. Ministério da Saúde. Vigilância epidemiológica do sarampo no Brasil 2020: semana epidemiológica 01 (29 dez. 2019) a 06 (8 fev. 2020), 2020. Disponível em: <www.saude.gov.br/images/pdf/2020/marco/05/Boletim-epidemiologico-SVS-09--.pdf>. Acesso em: 19 maio 2020.

CHAMBERS, T. J. *et al*. Flavivirus genome organization, expression, and replication. *Annual Review of Microbiology*, 44: 649-488, 1990.

RICE, C. M. *et al*. Nucleotide sequence of yellow fever virus: implications for flavivirus gene expression and evolution. *Science*, 229: 726-733, 1985.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). *A Global Strategy to Eliminate Yellow Fever Epidemics (EYE) 2017-2026*. Geneva: WHO, 2017.

Chicungunha

ALBUQUERQUE, I. G. *et al*. Chikungunya virus infection: report of the first case diagnosed in Rio de Janeiro, Brazil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 45: 128-129, 2012.

BURT, F. J. *et al*. 2017. Chikungunya virus: an update on the biology and pathogenesis of this emerging pathogen. *The Lancet Infectious Disease*, 17: e107-117, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/S1473-3099(16)30385-1>. Acesso em: 10 jan. 2020.

MEHTA, R. *et al*. The neurological complications of chikungunya virus: a systematic review. *Reviews in Medical Virology*, 28: e1978, 2018.

NUNES, M. R. T. *et al*. Emergence and potential for spread of Chikungunya virus in Brazil. *BMC Medicine*, 13(102): 1, 2015.

REYES-SANDOVAL, A. 51 years in of Chikungunya clinical vaccine development: a historical perspective. *Human Vaccines and Immunotherapeutics*, 15(10): 2.351-2.358, 2019.

SAVAGE, H. M. *et al*. Incrimination of Aedes (Stegomyia) hensilliFarner as an epidemic vector of Chikungunya virus on Yap Island, Federated States of Micronesia. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 92: 429-436, 2013.

WEAVER, S. C.; CHEN, R. & DIALLO, M. Chikungunya Virus: role of vectors in emergence from enzootic cycles. *Annual Review of Entomology*, 65: 313-332, 2020.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Guidelines on clinical management of Chikungunya fever, 2008. Disponível em: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/205178/B3234.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em: 11 maio 2020.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Chikungunya virus fact sheet. Disponível em: <www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/chikungunya>. Acesso em: 11 maio 2020.

8

Noções Básicas de Biossegurança e Boas Práticas de Laboratório

Debora Regina Lopes dos Santos • Elba Regina Sampaio de Lemos •
Liana Strecht Pereira • Maria da Penha Trindade Pinheiro Xavier

Princípios de Biossegurança

São muitas as definições de biossegurança, mas aqui adotamos aquela registrada na publicação da Editora Fiocruz intitulada *Biossegurança: uma abordagem multidisciplinar*, em que o termo designa "um conjunto de ações voltadas para a prevenção, minimização ou eliminação de riscos inerentes às atividades de pesquisa, produção, ensino, desenvolvimento tecnológico e prestação de serviço que podem comprometer a saúde do homem, dos animais, do meio ambiente ou a qualidade dos trabalhos desenvolvidos". Ou seja, as medidas em biossegurança têm como objetivo assegurar que todo e qualquer procedimento realizado dentro de um laboratório de pesquisa ou de saúde pública seja seguro para o operador e, ao mesmo tempo, garanta a confiabilidade dos resultados obtidos, considerando que é responsabilidade do usuário seguir tais medidas.

No Brasil, a biossegurança tem duas vertentes: 1) a biossegurança legal, que abrange a manipulação de organismos geneticamente modificados, cuja regulamentação está presente na lei n. 11.105/05, que define as atribuições da Comissão Técnica Nacional de Biossegurança (CTNBio); e 2) a biossegurança praticada, que envolve riscos biológicos, físicos, químicos, ergonômicos e de acidentes de trabalho, além de psicossomáticos, cujas normas e regulamentações se encontram, de forma dispersa, nas

resoluções da Agência Nacional de Aviação Civil (Anac), da Agência Nacional de Transportes Aquaviários (ANATQ), da Agência Nacional de Transportes Terrestres (ANTT), da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa), do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (Concea), da Comissão de Biossegurança do Ministério da Defesa, do Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (Ibama), do Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio), do Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia (Inmetro), da Fundação Jorge Duprat Figueiredo, de Segurança e Medicina do Trabalho (Fundacentro), da Secretaria de Trabalho do Ministério da Economia e da Secretaria de Vigilância em Saúde do Ministério da Saúde, entre outros órgãos.

A premissa de que cabe à biossegurança promover um ambiente seguro de trabalho em laboratórios e também em atividades de campo, evitando a exposição do profissional e causando danos mínimos à sociedade e ao meio ambiente torna necessária/imperativa a consideração de três elementos fundamentais: 1) perigo – agente que pode causar danos ao indivíduo e ao ambiente; pode ser, por exemplo, biológico, químico ou físico; 2) risco – probabilidade de sofrer os efeitos resultantes da exposição aos agentes (perigo), como, por exemplo, na manipulação de amostras de sangue sem luvas; e 3) acidente – ação indesejada, não intencional, que leva à concretização do risco.

O acidente pode ser evitado mediante: 1) a retirada do perigo ou sua substituição; ou 2) a adoção de medidas preventivas, considerando então a tríade procedimentos, equipamentos de proteção e infraestrutura das instalações laboratoriais.

Um princípio básico da biossegurança é a contenção do risco de exposição a agentes potencialmente nocivos ao trabalhador, a pacientes e ao meio ambiente, de modo a minimizá-lo ou eliminá-lo. Tal contenção consiste em métodos de segurança utilizados na manipulação de materiais infecciosos ou causadores de riscos em meio laboratorial, onde estão sendo manejados ou mantidos, e pode ser primária ou secundária. A contenção primária, relacionada à proteção do indivíduo e do ambiente de trabalho

contra a exposição ao perigo, é feita mediante práticas laboratoriais seguras associadas com uso adequado dos equipamentos de proteção, que podem ser individuais (EPIs), como máscaras e luvas, ou coletivos (EPCs), como cabines e extintores de incêndio. Estes últimos, além de protegerem o profissional, são utilizados para mitigar os riscos relacionados ao ambiente e ao produto da pesquisa ou estudo em desenvolvimento (cf. seção referente a equipamentos de proteção).

A contenção secundária diz respeito às instalações, à estrutura física e às rotinas de trabalho, e tem como objetivo principal proteger o ambiente externo contra contaminação biológica ou química. Um exemplo é o descarte adequado de resíduos químicos e a limpeza com desinfecção da área de trabalho em um laboratório de bacteriologia.

Tipos de Agentes de Riscos

Os agentes de risco, detalhados a seguir, podem ser classificados como biológicos, físicos, químicos, ergonômicos e de acidentes, além de psicossociais, os quais foram intensificados com o advento da pandemia de covid-19.

1. Agentes de risco biológico são os agentes infecciosos virais, bacterianos, fúngicos, além de parasitas e príons. Podem ser procedentes de amostras biológicas, como sangue, urina, escarro, peças cirúrgicas, biópsias, tecidos, entre outras, de população humana ou de outros animais, de culturas ou mesmo provenientes de plantas.
2. Agentes de risco físico são os ruídos, pressões anormais, temperaturas excessivas, radiações, vibrações e umidade. Para cada um desses elementos há um limite permitido.
3. Agentes de risco químico são substâncias, compostos ou produtos que possam causar dano ao organismo do indivíduo. A exposição a esse tipo de agente ocorre mais comumente pela via respiratória, na forma de poeira, gases, neblinas, névoas ou vapores. Nesta classe também se incluem os compostos que possam ser absorvidos pelo organismo por meio de ingestão ou através da pele.

4. Agentes de risco ergonômico podem ser mobiliário impróprio para atividade, repetitividade ou monotonia nos processos, causando desconforto ou interferência nas características psíquicas e fisiológicas do indivíduo e afetando sua saúde.

5. Agentes de risco de acidentes estão relacionados ao uso de máquinas e equipamentos sem proteção, ao armazenamento de materiais ou equipamentos inadequados e a arranjos físicos inadequados que colocam o indivíduo em situação que possa afetar sua integridade e seu bem-estar físico e psíquico. São frequentes em ambientes externos durante atividade de campo, onde acidentes com animais precisam ser considerados.

Classes de Risco Biológico

Embora, de forma geral, a classificação de risco dos agentes biológicos deva acompanhar o conhecimento e as determinações internacionais, é necessário considerar situações específicas relacionadas à ocorrência de doenças endêmicas em determinada região, assim como à presença de condições que viabilizam a manutenção de determinado agente infeccioso em um ambiente específico. Nesses contextos, há alguns critérios para avaliação de risco biológico, dentre os quais se destacam: 1) a natureza do agente de risco biológico, decorrente de sua infectividade, patogenicidade e virulência; 2) a disponibilidade de tratamento ou vacinas; 3) o modo de transmissão; 4) a estabilidade do agente; e 5) sua concentração e volume. Em adição deve-se considerar também, por exemplo, os procedimentos que geram aerolização e o cultivo do agente em larga escala.

Os agentes biológicos que representam risco potencial à saúde humana são classificados de 1 a 4, considerando-se o risco individual e o comunitário, de acordo com a transmissibilidade e a disponibilidade de medidas profiláticas ou terapêuticas, como resumido a seguir.

1. Classe de risco 1 (baixo risco individual e para comunidade): inclui agentes biológicos conhecidos por não causarem doenças no homem ou nos animais adultos sadios.

2. Classe de risco 2 (moderado risco individual e risco limitado para comunidades): inclui agentes biológicos conhecidos por causarem doenças no homem e nos animais, com disponibilidade de medidas terapêuticas e profiláticas, como os antivirais e as vacinas, respectivamente.
3. Classe de risco 3 (alto risco individual e risco moderado para comunidade): inclui agentes biológicos conhecidos por causarem doenças no homem e nos animais com transmissibilidade de moderada a alta, níveis de contenção mais rígidos para manipulação em laboratório e disponibilidade limitada e variada de medidas profiláticas e/ou terapêuticas.
4. Classe de risco 4 (alto risco individual e comunitário): inclui agentes biológicos conhecidos por causarem doenças no homem e nos animais, com alta transmissibilidade e ausência de medidas profiláticas e/ou terapêuticas.

Níveis de Biossegurança

Assim como a classificação dos agentes de risco, os laboratórios são divididos em diferentes níveis de biossegurança (NBs), de acordo com as necessidades de segurança para a manipulação de cada classe de risco do agente biológico (Quadro 1). Assim, os níveis de biossegurança são crescentes e divididos em quatro categorias: NB1, NB2, NB3 e NB4. Um mesmo laboratório pode trabalhar com agentes biológicos de diferentes classes de risco, caso em que prevalecerá o nível referente ao agente de maior risco, considerando-se também os procedimentos a serem realizados. Dessa forma, um agente de classe de risco 2 deverá ser manipulado em um laboratório NB3 se produzir grande quantidade do agente infeccioso a partir de cultura viral, por exemplo. Inversamente, um agente classificado como de classe de risco 3 poderá ser manipulado em um laboratório NB2 quando se trata de realizar apenas testes sorológicos e moleculares com a utilização de EPIs e EPCs adequados. Os diferentes níveis de biossegurança são determinantes para a segurança dos profissionais do laboratório, para a comunidade e para o meio ambiente.

Quadro 1 – Níveis de biossegurança (NBs) de laboratórios

NB1	NB2	NB3	NB4
Manipulação de agentes biológicos de classe de risco 1 Baixo nível de contenção Utilização das boas práticas de laboratório e de EPIs Exemplo: laboratórios de ensino básico com manipulação do agente na bancada	Manipulação de agentes biológicos de classe de risco 2 Aplicado a laboratórios clínicos e hospitalares de níveis primários de diagnóstico Aplicação de barreiras físicas primárias (cabine de segurança biológica e EPIs) e secundárias (planta física e organização do laboratório) de contenção Emprego das boas práticas de laboratório Acesso ao laboratório restrito aos profissionais da área	Manipulação de agentes biológicos de classe de risco 3 ou grandes volumes e altas concentrações de agentes da classe de risco 2 Normas seguidas no NB2, com desenho e construção de laboratórios especiais Necessidade de barreiras de contenção (instalações e EPIs) e procedimentos especiais de segurança, além dos requisitos físicos e operacionais dos NBs 1 e 2 Treinamento, destinado aos profissionais da área, específico sobre os procedimentos de segurança para a manipulação desses organismos Controle rígido na operação, inspeção e manutenção das instalações e equipamentos Acesso ao laboratório restrito aos profissionais da área	Manipulação de agentes biológicos de classe de risco 4 e agentes biológicos especiais Necessidade de, além dos requisitos físicos e operacionais dos NBs 1, 2 e 3, ser uma unidade geográfica e funcionalmente independente de outras áreas, com barreiras de contenção (instalações e EPIs) e procedimentos especiais de segurança Acesso dos profissionais da área a este tipo de laboratório rigorosamente controlado

Equipamentos de Segurança

Embora identificar o risco seja muito importante em todas as atividades laborais, de saúde ou não, é imprescindível estabelecer medidas de segurança a fim de proporcionar um ambiente seguro aos profissionais para que possam desempenhar as suas funções sem risco para a saúde humana e animal, para a preservação do meio ambiente e da qualidade dos resultados obtidos nas pesquisas. Nesse contexto e considerando a impossibilidade de se alcançar risco zero, faz-se necessário o uso de EPI e EPC.

Equipamento de Proteção Individual (EPI)

Definido como qualquer dispositivo de uso individual, o EPI destina-se a proteger a saúde e a integridade física do trabalhador mediante minimização ou prevenção do contato entre o operador e o material utilizado. Por questões de segurança e higiene, esse tipo de material não deve ser compartilhado e deve ser descartado adequadamente. Além disso, sabe-se que a maioria dos EPIs, se utilizados adequadamente, promovem também certa contenção da dispersão de agentes infecciosos no ambiente, preservando a limpeza do laboratório. A utilização dos EPIs é regulamentada pela Secretaria de Trabalho do Ministério da Economia.

Os principais EPIs são:

1. Luvas – devem ser usadas durante a manipulação de materiais potencialmente infectantes, de produtos químicos ou em condições de temperatura extrema. Quanto à sua composição, as luvas podem ser: a) de látex para procedimentos em geral, barreira contra agentes biológicos, ácidos e bases diluídos, exceto para solventes orgânicos; b) de cloreto de vinila ou policloreto de vinil (PVC) contra agentes químicos classe B, como detergente e sabão; c) de látex nitrílico para manipulação de produtos químicos, principalmente ácidos, cáusticos e solventes; d) de fibra de vidro com polietileno reversível para prevenção contra materiais cortantes; e) de fio de Kevlar® tricotado para manuseio de materiais em temperaturas até 250 °C; f) de náilon para manipulação de materiais mantidos em temperaturas

ultrabaixas (ex.: nitrogênio líquido, −196 °C); e g) de borracha para serviços gerais de limpeza e descontaminação.

2. Avental ou jaleco – de uso obrigatório, deve ser preferencialmente de material descartável, considerando a gramatura e a impermeabilidade. Os aventais de tecido devem ter mangas compridas, comprimento pelo menos até a altura dos joelhos e ser usados fechados. As fibras naturais são preferíveis (100% algodão), uma vez que as fibras sintéticas apresentam risco de inflamar com facilidade. O avental ou jaleco deve ser de uso restrito e exclusivo no ambiente laboratorial. O jaleco fora do ambiente de trabalho, seja hospitalar ou laboratorial, é proibido. Quando for retirado do laboratório, o avental deve ser autoclavado e, posteriormente, acondicionado em saco plástico apropriado. Os aventais descartáveis também devem ter as mangas compridas com punhos e ser fechados dorsalmente.

3. Máscara – protege ou minimiza a inalação de gases, poeira, névoas e voláteis. Pode ter composição sintética e com filtro (o uso de cada tipo depende do risco envolvido; usa-se máscara N95/PFF2 – PFF significa Peça Facial Filtrante – ou equivalente em procedimentos que gerem aerossóis, além de respiradores motorizados para purificação de ar, que fornecem alto nível em proteção respiratória). As máscaras de tecido não são consideradas EPIs, mas podem ser utilizadas como barreira fora do ambiente laboratorial.

4. Touca – protege o cabelo do contato com materiais infectantes e/ou produtos químicos.

5. Óculos de proteção e protetor facial – a finalidade é proteger os olhos e o rosto contra gotas, impacto, borrifos, aerossol, salpicos e radiação ultravioleta.

Equipamento de Proteção Coletiva (EPC)

Todo equipamento responsável pela proteção dos profissionais do laboratório, do meio ambiente e da pesquisa desenvolvida é um EPC. Os principais são:

1. Cabine de segurança química – projetada de forma aerodinâmica, com fluxo de ar ambiental que não causa turbulências e correntes; reduz o risco de inalação e contaminação do operador e do ambiente externo.
2. Cabine de segurança biológica (CSB) – equipamento projetado para proteger o operador, o ambiente laboratorial e o material manipulado da exposição a aerossóis e produção de partículas aerotransportadas resultantes do manuseio de materiais que contenham agentes infecciosos. As CSBs são equipadas com filtros de alta eficiência, sendo o filtro HEPA (*high efficiency particulate air*) o de uso mais frequente. A eficiência de filtragem do filtro HEPA é de 99,93% para partículas de até 0,3 μm de diâmetro.
3. Chuveiro de emergência – com aproximadamente 30 cm de diâmetro, este equipamento é utilizado para promover uma descontaminação eficiente, por meio de um fluxo controlado de água. Deve ser acionado por alavancas de mão e cotovelos e estar posicionado em local de fácil acesso.
4. Lava-olhos – dispositivo formado por dois chuveiros de média pressão, com tamanho apropriado para a lavagem de olhos e acoplado a uma bacia metálica, cujo ângulo permite direcionamento correto do jato de água. Pode fazer parte do chuveiro de emergência ou estar disponível à parte, no formato de frasco para lavagem ocular.
5. Extintor de incêndio – utilizado para acidentes envolvendo incêndio, pode ser de vários tipos e sua escolha irá depender do material com potencial de entrar em combustão.

Boas Práticas de Laboratório (BPLs)

Boas práticas de laboratório (BPLs) são um conjunto de ações que visa à diminuição dos riscos no ambiente laboratorial. Essas medidas consistem em atividades organizacionais do ambiente de trabalho e procedimentos básicos, como a utilização de EPIs e EPCs, limpeza e higienização do ambiente laboratorial, destino adequado dos resíduos gerados, entre outras.

Para a implementação das BPLs, é relevante cumprir as recomendações que se seguem.

1. Recomendações de nível individual

    a. Evitar trabalhar sozinho no laboratório.
    b. Nunca pipetar com a boca, usar pipetadores automáticos, manuais ou peras de borracha.
    c. Evitar levar as mãos à boca, nariz, cabelo, olhos e ouvidos durante as atividades no laboratório.
    d. Lavar as mãos antes e após os experimentos.
    e. Utilizar jaleco descartável apenas nas instalações do laboratório.
    f. Usar sempre sapato fechado.
    g. Manter os cabelos presos e as unhas curtas e limpas.
    h. Evitar o uso de lentes de contato no laboratório, mas, em caso de necessidade, não as manipular e sempre utilizar óculos de proteção.
    i. Não usar colar, anéis, pulseiras, brincos e *piercings* dentro do laboratório.
    j. Sempre usar luvas.
    k. Conhecer os riscos oferecidos pelos produtos químicos utilizados no laboratório.
    l. Utilizar armários próprios para guardar objetos pessoais.
    m. Não manipular objetos de uso coletivo como, por exemplo, maçanetas, telefone e teclados de computador enquanto estiver usando luvas.
    n. Proteger-se por imunização apropriada (vacinação) quando disponível.
    o. Não utilizar celular dentro do laboratório.
    p. Não fumar, não comer, não beber no local de trabalho onde houver qualquer agente patogênico. Não estocar comida ou bebida no laboratório.
    q. Manter a organização na bancada.
    r. Evitar transporte de materiais químicos ou biológicos de um lugar para outro no laboratório.

s. Usar corretamente os equipamentos.

2. Recomendações de nível coletivo (laboratorial/equipe)

a. Manter um manual de biossegurança no laboratório.

b. Higienizar e limpar adequadamente o ambiente de trabalho.

c. Identificar e armazenar produtos químicos tóxicos.

d. Dispor em área segura do laboratório os equipamentos que podem oferecer risco (p. ex., autoclave, contêiner de nitrogênio etc.).

e. Manter uma pasta com as Fichas de Informações de Segurança de Produtos Químicos (FISPQs) em local visível e de fácil acesso.

f. Iluminar adequadamente o ambiente laboratorial.

g. Manter sinalização de emergência presente e evidente nos laboratórios.

h. Disponibilizar caixa de primeiros socorros e pessoal treinado para utilizá-los.

i. Manter os extintores dentro do prazo de validade e com pressão dentro dos limites de normalidade.

j. Identificar as tomadas quanto à voltagem.

k. Disponibilizar EPCs e fornecer quantidades suficientes de EPIs.

l. Manter protocolo de rotina acessível em caso de acidentes.

m. Restringir o uso de agulhas, seringas e outros objetos perfurocortantes. Nunca recapear agulhas e descartá-las adequadamente.

n. Realizar todos os procedimentos técnicos com o mínimo de produção de aerossóis.

o. Utilizar cabine de segurança biológica sempre que manipular materiais que precisem de proteção contra contaminação e/ou infecção.

Comentários Finais

Os profissionais que atuam nos laboratórios, seja de pesquisa, seja relacionados às atividades de ensino, assistenciais ou de vigilância epidemiológica, no contexto de saúde pública ou saúde animal, estão sujeitos a risco ocupacional de adoecer em decorrência da exposição a agentes infecciosos, substâncias químicas ou radioativas. Para reduzir acidentes de trabalho nesses ambientes, os princípios básicos de biossegurança – contenção e precaução – devem ser incorporados na rotina.

Bibliografia
Consultada/Sugerida

ADEGAS, M. G. *et al*. *Parâmetros de Biossegurança para Insetários e Infectórios de Vetores*. Rio de Janeiro: Fiocruz, 2015. Disponível em: <www.inctem.bioqmed.ufrj.br/images/biblioteca/Fiocruz_Parametros_de_Biosseguranca_Miolo.pdf>. Acesso: 30 jun. 2021.

BORBA, C. M. *et al*. Biossegurança e boas práticas laboratoriais. *In*: MOLINARO, E.; CAPUTO, L. & AMENDOEIRA, R. (Orgs.). *Conceitos e Métodos para a Formação de Profissionais em Laboratórios de Saúde*. v. 1. Rio de Janeiro: EPSJV/Fiocruz, 2009. Disponível em: <www.arca.fiocruz.br/handle/icict/13406>. Acesso: 30 jun. 2021.

BRASIL. Ministério da Saúde. *Processamento de Artigos e Superfícies em Estabelecimentos de Saúde*. 2. ed. Brasília: Ministério da Saúde, 1994. Disponível em: <https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/superficie.pdf>. Acesso em: 30 jun. 2021

BRASIL. Ministério da Saúde. *Manual de Primeiros Socorros*. Rio de Janeiro: Ministério da Saúde, Fiocruz, 2003. Disponível em: <www.fiocruz.br/biosseguranca/Bis/manuais/biosseguranca/manualdeprimeirossocorros.pdf>. Acesso em: 8 maio 2021.

BRASIL. Ministério da Saúde. *Classificação de Risco dos Agentes Biológicos do Ministério da Saúde*. Brasília: Ministério da Saúde, 2022. Disponível em: <https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/classificacao_risco_agentes_biologicos_1ed.pdf>. Acesso em: 5 mar. 2023.

DOZORETZ, P. Airborne particle measurements: 100 LPM vs. 1 CFM particle counters in a semiconductor cleanroom environment. Disponível em: <www.pmeasuring.com/wp-content/uploads/2019/03/Airborne-Particle-Meas-100-LPM-vs-1-CFM.pdf>. Acesso em: 30 jun. 2021.

FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ (FIOCRUZ). Escola Politécnica de Saúde Joaquim Venâncio. Webgrafia sobre Biossegurança em Biotérios e Laboratórios. Disponível em: <www.epsjv.fiocruz.br/webgrafia-em-biosseguranca-em-bioterios-e-laboratorio?fbclid=IwAR2HFf3OWCLVFh0RhWPzjXMoglZHRtB9xMNnsBLZi-_jNlQNRowrtJuojFI>. Acesso em: 30 jun. 2021a.

FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ (FIOCRUZ). Instituto de Comunicação Científica e Tecnológica em Saúde. Sistema Nacional de Informações Tóxico-Farmacológicas (Sinitox). Disponível em: <https://sinitox.icict.fiocruz.br/>. Acesso em: 30 jun. 2021b.

LEMOS, E. R. S. & D'ANDREA, P. S. *Trabalho de Campo com Animais: procedimentos, riscos e biossegurança*. v. 1. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, 2014. Disponível em: <https://portal.fiocruz.br/livro/trabalho-de-campo-com-animais-procedimentos-riscos-e-biosseguranca>. Acesso em: 30 jun. 2021.

MEECHAN, P. & POTTS, J. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories. 6. ed. Atlanta, Bethesda: U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, Centers for Disease Control and Prevention, National Institutes of Health, 2020. Disponível em: <https://stacks.cdc.gov/view/cdc/97733>. Acesso: 30 jun. 2021.

PENNA, P. M. M. *et al*. Biossegurança: uma revisão. *Arquivos do Instituto Biológico*, 77(3): 555-465, 2010. Disponível em: <www.scielo.br/j/aib/a/hqt8HGY9DP6zrbSFCKRz4jt/?lang=pt>. Acesso em: 30 jun. 2021.

SALGADO FILHO, N. Biossegurança em laboratórios. São Luís: Universidade Federal do Maranhão. Disponível em: <www.ufma.br/portalUFMA/arquivo/3c85c88c4fc6e33.pdf>. Acesso em: 30 jun. 2021.

SECRETARÍA DEL CONVENIO SOBRE LA DIVERSIDAD BIOLÓGICA. *Protocolo de Cartagena sobre Seguridad de La Biotecnología del Convenio sobre La Diversidad Biológica: texto y anexos*. Montreal: Secretaría del Convenio sobre La Diversidad Biológica, 2000. Disponível em: <www.cbd.int/doc/legal/cartagena-protocol-es.pdf>. Acesso em: 8 maio 2021.

TEIXEIRA, P. & VALLE, S. (Orgs.). *Biossegurança: uma abordagem multidisciplinar*. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, 1996. Disponível em: <http://cibioib.sites.uff.br/wp-content/uploads/sites/282/2020/02/Biosseguran%C3%A7a-uma-abordagem-multidisciplinar-.-Pedro-Teixeira-e-Silvio-Valle-2010.pdf>. Acesso: 30 jun. 2021.

TEIXEIRA, P. & VALLE, S. Apresentação à primeira edição. *In:* TEIXEIRA, P. & VALLE, S. (Orgs.). *Biossegurança: uma abordagem multidisciplinar*. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, 2010.

VALLE, S. (Org.). Webgrafia sobre biossegurança hospitalar. Disponível em: <https://observatoriohospitalar.fiocruz.br/conteudo-interno/biblioteca-sobre-biosseguranca-hospitalar-na-pandemia-de-covid-19-2652020>. Acesso em: 6 jul. 2021.

VALLE, S. (Org.). Webgrafia procedimentos de reabertura institucional na pandemia da covid-19. Disponível em: <https://observatoriohospitalar.fiocruz.br/conteudo-interno/opgh-disponibiliza-webgrafia-procedimentos-de-reabertura-institucional-na-pandemia>. Acesso em: 30 jun. 2021a.

VALLE, S. Grupo de Discussão Biossegurança & Biotecnologia. Disponível em: <www.facebook.com/groups/silviovalle>. Acesso em: 30 jun. 2021b.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). *Laboratory Biosafety Manual*. 4. ed. Geneva: World Health Organization, 2020. Disponível em: <www.who.int/publications/i/item/9789240011311>. Acesso em: 30 jun. 2021.

9

Prevenção, Controle e Tratamento das Infecções Virais

Diogo Gama Caetano • Elba Regina Sampaio de Lemos • Luciane Almeida Amado Leon • Nathalia Beatriz Ramos de Sá • Suwellen Sardinha Dias de Azevedo • Sylvia Lopes Maia Teixeira • Thais Silva de Souza • Thaysse Cristina Neiva Ferreira Leite

As particularidades das diferentes infecções virais levaram ao desenvolvimento de diversas estratégias para prevenção, controle, manejo e tratamento de doenças infecciosas. De modo amplo, as complexidades das infecções virais demandam o desenvolvimento e estabelecimento de políticas públicas de vigilância epidemiológica e sanitária que permitem identificar, investigar e monitorar patógenos emergentes/reemergentes, assim como as doenças que provocam e os fatores envolvidos no surgimento de casos e na transmissão de infecções. Em conjunto, essas estratégias possibilitam o estabelecimento e a implementação de medidas de prevenção e controle, fundamentais para promover a saúde da população.

Medidas de Prevenção e Controle

Doenças virais e o Programa Nacional de Imunizações

Apesar dos desafios para o seu desenvolvimento e a ascensão de movimentos antivacina nos últimos anos, a vacinação é considerada um dos maiores avanços da humanidade do ponto de vista da saúde pública. No Brasil, o Programa Nacional de Imunizações (PNI), criado em 1973 com

o objetivo de controlar e eliminar doenças infecciosas, disponibiliza em seu calendário vacinas atenuadas, inativadas, conjugadas e recombinantes, além de soros e imunoglobulinas, para diversas viroses (Quadro 1). As informações sobre doses, esquema e cronograma, assim como sobre efeitos adversos, encontram-se disponíveis no Calendário Vacinal – Instrução Normativa 2020, no portal do Ministério da Saúde.

Quadro 1 – Imunobiológicos disponíveis no PNI pelo Sistema Único da Saúde (SUS) para controle e eliminação das viroses mais importantes no Brasil

Virose	Antígeno	Vacina	Idade de vacinação
Caxumba	Vírus atenuado	• tríplice viral (MMR ou SCR) – vacina combinada contra sarampo, caxumba e rubéola • tetraviral (MMRV ou SCR-V) – vacina combinada contra sarampo, caxumba, rubéola e varicela (catapora)	A partir de 6 meses
Rubéola			
Sarampo			
Febre amarela	Vírus atenuado	• febre amarela (FA) ou YF	A partir de 9 meses
Hepatite A	Vírus inativado	• vacina contra hepatite A (HepA)	De 15 meses a 5 anos
Hepatite B	Proteína recombinante	• vacina contra hepatite B (HB)	Ao nascer
Influenza (gripe)	Vírus inativado	• vacina contra gripe (IIV*) – vacina sazonal contra cepas do vírus influenza	A partir de 6 meses
	Vírus atenuado	• vacina quadrivalente intranasal (LAIV)	
	Proteína recombinante	• vacina trivalente (RIV3)	
Papilomavirose humana	Vacina de partículas semelhantes a vírus (VLP)	• vacina bivalente (tipos 16 e 18) (HPV2) • vacina quadrivalente (tipos 6, 11, 16 e 18) (HPV4) • vacina nonavalente (tipos 6, 11, 16, 18, 31, 33, 45, 52 e 58) (HPV9)	Meninas de 9 a 14 anos; meninos de 11 a 14 anos
Poliomielite	Vírus inativado	• vacina contra a poliomielite (VIP), também conhecida como vacina Salk • vacina sêxtupla acelular ou "hexa" (DTPa-VIP-HB/Hib) – combinação da tríplice bacteriana acelular (DTaP), da poliomielite inativada (VIP), da hepatite B (HB) e da *Haemophilus influenzae* tipo b (Hib) • combinação tríplice bacteriana de células inteiras com a vacina contra hepatite e a vacina contra Hib (DTPw-HB/VIP)	A partir de 2 meses
	Vírus atenuado	• vacina oral contra poliomielite – VOP (OPV)	A partir de 15 meses

Quadro 1 – Imunobiológicos disponíveis no PNI pelo Sistema Único da Saúde (SUS) para controle e eliminação das viroses mais importantes no Brasil (cont.)

Virose	Antígeno	Vacina	Idade de vacinação
Rotavirose	Vírus atenuado	• vacina oral monovalente (VRH1) contra rotavírus genótipo G1P[8] • vacina oral pentavalente (VR5) contra rotavírus genótipos G1P[5], G2P[5], G3P[5], G4P[5] e G6P[8]	A partir de 2 meses
Varicela	Vírus atenuado	• vacina contra catapora (VAR) • vacina combinada – MMRV (SCR-V) – contra sarampo, caxumba, rubéola e varicela (catapora)	Aos 4 anos
Herpes-zóster	Vírus atenuado**	• vacina contra herpes-zóster (HZV)	A partir de 50 anos

Siglas: MMR, do inglês *measles, mumps and rubella*; MMRV, do inglês *measles, mumps and rubella and varicella*; YF, do inglês *yellow fever*; IIV, do inglês *inactivated influenza vaccine*; LAIV, do inglês *live, attenuated influenza vaccine*; RIV3, do inglês *recombinant trivalent influenza vaccine;* VLP, do inglês *virus-like particles*; HPV, do inglês *human papiloma virus*; VIP ou IPV, do inglês *inactivated polio vaccine*; OPV, do inglês *oral polio vaccine*; HZV, do inglês *herpes zoster vaccine*.

*Dois tipos de vacina: trivalente, com duas cepas de vírus influenza A e uma cepa de vírus influenza B; e quadrivalente, com duas cepas de vírus influenza A e duas cepas de vírus influenza B. **Mesmo vírus da vacina contra varicela (catapora), em maior concentração.

Viroses de transmissão hídrica

Existem vacinas para a maioria das viroses de transmissão hídrica de importância para saúde pública no Brasil, mas, para controle e prevenção da infecção viral, de uma forma geral, são necessárias medidas de higiene e sanitárias adequadas, como lavagem das mãos, higienização e cozimento dos alimentos, além de ações educativas e acesso da população à água potável e à coleta e ao tratamento de esgoto. Dada a interação saúde-ambiente, é importante considerar as ações da vigilância ambiental, que interferem na promoção da saúde da população humana, como a identificação de poliovírus selvagem em amostras de sistema de esgoto em uma determinada região.

Vírus da poliomielite e outros enterovírus

Após a certificação das Américas como região livre da transmissão do poliovírus selvagem, em 1994, o controle da poliomielite, que era mantido com a Sabin, uma vacina atenuada oral (VOP), disponibilizada tanto nos

postos de saúde quanto nas campanhas de vacinação, passou a ser realizado também com a vacina inativada Salk, introduzida em 2016 no calendário vacinal. As primeiras três doses administradas nos 6 primeiros meses de vida são de VIP e os dois reforços são de VOP.

A substituição da VOP pela VIP foi realizada de modo a prevenir casos de poliomielite paralítica causada por poliovírus derivados da vacina atenuada, os quais podem ocorrer em decorrência de mutação do vírus vacinal e apresentam prevalência de cerca de um caso para cada 2,5 milhões de doses aplicadas, segundo o Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Apesar desse risco, a manutenção da VOP como reforço no calendário do PNI é necessária para garantir a circulação do vírus vacinal na população e, por conseguinte, a produção de anticorpos específicos, limitando a reintrodução de variantes virais selvagens.

Como ainda existem poliovírus selvagens no Afeganistão e no Paquistão, na Ásia, e Malawi, no continente africano – neste último detectado em fevereiro de 2022 –, além de casos de paralisia flácida por outros vírus, como echovírus, enterovírus 71 e adenovírus, que têm sido identificados em diversas regiões do mundo, é preciso manter uma robusta vigilância epidemiológica e laboratorial para evitar, entre outros problemas de saúde pública, a reemergência de poliovírus selvagens no território brasileiro. Quanto aos outros enterovírus, não havia no Brasil, até o primeiro semestre de 2020, previsão de uma vacina disponível.

Vírus da hepatite A

A hepatite A tem endemicidade intermediária e constitui um importante problema de saúde pública no Brasil. Por essa razão, a vacina inativada contra a doença foi introduzida no PNI em 2014, em esquema de dose única para crianças de 15 meses até 5 anos. Além disso, é disponibilizada nos Centros de Referência para Imunobiológicos Especiais (Cries) para pessoas de maior vulnerabilidade e risco de doença grave, como indivíduos com imunossupressão, hemoglobinopatias, coagulopatias, candidatos a transplante e indivíduos infectados pelo HIV. A imunidade adquirida pela infecção natural ou pela vacinação é definitiva, ou seja, protege contra reinfecção.

Vírus da hepatite E

Como não existe vacina disponível contra o vírus da hepatite E, além dos procedimentos básicos descritos deve-se incluir ações de prevenção e controle relativas ao consumo de carne crua ou malcozida, especialmente a suína, e incentivo ao uso de equipamento de proteção individual (EPI) pelos trabalhadores que atuam diretamente com esses animais.

Rotavírus e outros vírus causadores de gastroenterites

No fim da década de 1990, houve suspensão da vacina disponível contra o rotavírus, em decorrência de casos de intussuscepção (invaginação intestinal), efeito adverso identificado em crianças vacinadas nos Estados Unidos. Atualmente, duas vacinas seguras, imunogênicas e eficazes se encontram disponíveis: a pentavalente RotaTeq, fornecida pela rede privada, e a monovalente Rotarix, oferecida pelo PNI e pela rede privada, para crianças de 2 a 8 meses de vida.

Não existem vacinas contra outros vírus causadores de gastroenterites, como o adenovírus, astrovírus e norovírus. Assim, a correta higienização das mãos e dos alimentos é uma importante estratégia para evitá-las. Em relação aos adenovírus, por serem resistentes a alguns desinfetantes comuns, faz-se necessário o uso de água sanitária para desinfecção de ambientes.

Viroses de transmissão respiratória

De uma forma geral, as medidas de prevenção e controle das infecções virais transmitidas por via respiratória incluem, além da vacinação quando existente, procedimentos como a higienização das mãos, o uso de lenços descartáveis e a conduta conhecida como etiqueta respiratória, que consiste em cobrir nariz e boca ao tossir ou espirrar. Os EPIs com proteção respiratória adequados, para os profissionais da saúde, são indispensáveis. Aglomerações em locais fechados e contato com indivíduos infectados podem facilitar a transmissão. Portanto, a identificação de pessoas com suspeita de influenza, sarampo e coronavírus, por exemplo, em aeroportos, portos e fronteiras exige a adoção de medidas de restrição social, como isolamento e quarentena, que podem auxiliar no controle de epidemias e pandemias.

Merecem destaque as medidas de prevenção instituídas em razão das infecções por coronavírus, considerando a epidemia do Sars-CoV-1, ocorrida em 2002-2003, que causou grande impacto na economia asiática e, mais recentemente, a pandemia do Sars-CoV-2 em 2020. Diante do desconhecimento e da complexidade da interação do Sars-CoV-2 com a população humana, as normas implementadas com base no conhecimento adquirido a curto prazo têm sido acompanhadas de polêmica e falta de consenso. Além das condutas previamente estabelecidas para o controle de infecções por transmissão respiratória, foram preconizados o distanciamento social e uso de máscaras para toda a população, independentemente de condição clínica. Até agosto de 2022, estavam disponíveis no Brasil quatro vacinas que haviam sido aprovadas pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa): Comirnaty (Pfizer/Wyeth), Coronavac (Butantan), Janssen Vaccine (Janssen-Cilag) e Oxford/Covishield (Fiocruz e Astrazeneca). No Brasil, a campanha de vacinação foi iniciada em 17 de janeiro de 2021, em São Paulo. Até agosto de 2022, a vacina contra covid-19 não estava no PNI, porém foi incluída no Plano Nacional de Operacionalização da Vacinação contra a Covid-19, instituído pelo Ministério da Saúde. Diversos estudos clínicos de vacinas estão sendo conduzidos por laboratórios farmacêuticos e instituições de pesquisas e toda atualização é publicada no site do Ministério da Saúde (https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/paf/coronavirus/vacinas). A seguir são apresentadas informações sobre controle e prevenção apenas das viroses de transmissão respiratória para as quais o PNI disponibiliza vacinas.

Influenza

A vacinação contra influenza é a medida de saúde pública mais importante para prevenir casos graves e óbitos. A Organização Mundial da Saúde (OMS) atualiza, anualmente, a recomendação das cepas para composição das vacinas contra influenza, com base nos resultados da vigilância global. Em vários países, estão licenciadas as vacinas inativadas, atenuadas vivas e recombinantes. Desde 2012, as vacinas mais avançadas contra influenza são quadrivalentes, contendo cepas dos vírus influenza A, subtipos H1N1pdm09 e H3N2, bem como dos vírus influenza B, das

linhagens Yamagata e Victoria, os quais circulam sazonalmente entre os humanos. Além das vacinas sazonais, ainda existem vacinas contra subtipos específicos de vírus com potencial pandêmico, que poderão ser utilizadas caso ocorram situações de pandemia. As vacinas inativadas, produzidas em ovos embrionados de galinha, são as mais utilizadas no mundo, devido aos custos de produção relativamente baixos e à alta segurança.

No Brasil, a vacina inativada anti-influenza trivalente é oferecida anualmente pelo PNI à população, num período anterior ao período epidêmico do vírus no país, com o propósito de reduzir internações, complicações e mortes na população-alvo. Entre a população-alvo se encontram crianças de 6 meses a 6 anos de idade, indivíduos com 60 anos ou mais, gestantes, puérperas, trabalhadores da saúde, professores das escolas públicas e privadas, povos indígenas, pessoas portadoras de doenças crônicas não transmissíveis.

Sarampo

A vacinação sistemática contra o sarampo, bem como a promoção de campanhas de imunização da população em países com elevadas taxas de incidência e mortalidade são estratégias fundamentais para reduzir a mortalidade global por essa doença. No Brasil, a vacina se encontra disponível em três tipos: dupla viral (sarampo e rubéola); tríplice viral (sarampo, rubéola e caxumba); e vacina tetraviral (sarampo, rubéola, caxumba e varicela). Em 2016, o Brasil e os outros países das Américas foram reconhecidos pela Organização Pan-Americana da Saúde (Opas) como áreas livres do sarampo. No entanto, a partir de 2018, devido à queda nas coberturas vacinais, o contato de pessoas que contraíram a doença no exterior com brasileiros não vacinados levou à ocorrência de surtos sustentados de grandes proporções – especialmente no Amazonas, Roraima e São Paulo. Em 2019, o país voltou a ser endêmico para essa doença, o que levou o Brasil a perder o certificado de país livre do sarampo. As coberturas vacinais municipais ainda são heterogêneas no Brasil, favorecendo a formação de bolsões de não vacinados e a ocorrência de novos surtos, tornando importante a realização de estratégias de vacinação que possam minimizar o risco da ocorrência dessa doença.

Desde então, o Ministério da Saúde, através do PNI, revisa os critérios de indicação da vacina levando em consideração diversos fatores epidemiológicos, além das características clínicas, idade dos indivíduos acometidos, ocorrência de surtos e aumento de incidência de casos em outras regiões do mundo. Atualmente, recomendam-se duas doses da vacina para crianças, com a primeira dose aos 12 meses e a segunda aos 15 meses de idade. No entanto, diante do aumento de casos de sarampo no Brasil, o Ministério da Saúde tem preconizado que todas as crianças entre 6 meses e 1 ano devem ser vacinadas com uma dose extra. Quanto à população adulta, na dependência da faixa etária e do histórico vacinal, o Ministério da Saúde recomenda: para indivíduos entre 1 e 29 anos sem histórico ou comprovação de vacinação, realizar esquema vacinal com duas doses; para indivíduos entre 1 e 29 anos, completar o esquema vacinal com a segunda dose da vacina, e indivíduos na faixa etária de 30 a 59 anos, vacinar com apenas uma única dose. Diante da possibilidade da ameaça de surtos ou epidemias, a vacinação deve ser utilizada como estratégia de bloqueio. Essa vacina é segura, eficaz, e tem sido utilizada há mais de cinquenta anos.

Rubéola

O objetivo do PNI no controle da rubéola é eliminar a ocorrência da síndrome da rubéola congênita. Para tal, foram realizadas campanhas de vacinação no período de 1998 a 2002, dirigidas ao público feminino na faixa etária de 12 a 49 anos. Atualmente, a vacina encontra-se disponível também para os homens entre os 12 e 39 anos.

Parotidite epidêmica (caxumba)

A principal forma de prevenção da parotidite epidêmica é pela vacinação. No Brasil, as vacinas contra caxumba estão disponíveis na formulação da vacina tríplice viral (sarampo, caxumba, rubéola) ou vacina tetraviral (sarampo, caxumba, rubéola e varicela). A vacinação de bloqueio é uma estratégia utilizada como controle em casos de surto e deve ser realizada após avaliação da condição vacinal dos envolvidos. Com exceção das gestantes e imunodeprimidos graves, todos os indivíduos adultos sem história de infecção prévia têm indicação de vacinação.

Varicela e herpes-zóster

Os objetivos das medidas de prevenção e controle da varicela são, principalmente, restringir a disseminação do vírus varicela-zóster e reduzir os números de internações, complicações e óbitos pela doença. A varicela pode ser evitada por imunização, e a vacina está licenciada no Brasil na forma monovalente (antígeno único) ou em combinação na vacina tetraviral (sarampo, caxumba, rubéola e varicela). Quanto ao herpes-zóster, a vacina que contém uma concentração maior de vírus, em comparação com a vacina para varicela, é indicada, segundo a Sociedade Brasileira de Imunizações (SBIm), para pessoas acima dos 50 anos de idade, sendo considerada a melhor forma de prevenir tanto o herpes-zóster quanto a nevralgia pós-herpética.

Dor forte e persistente de origem neurológica que pode ocorrer na região das lesões de pele observadas no herpes-zóster.

Viroses de transmissão parenteral e sexual

Como existem vacinas apenas contra os vírus da hepatite B (HBV) e HPV, outras medidas preventivas fazem-se necessárias, considerando a importância de eliminar as condutas de risco. A exemplo do que ocorre com o HIV, cuja transmissão em 75% dos casos acontece por via sexual, a principal medida de prevenção de viroses transmitidas por esta via é o uso de preservativo durante as relações sexuais. Essa recomendação estende-se a todos os vírus listados nesta seção, apesar de a transmissão sexual do vírus da hepatite C (HCV) ser considerada um evento raro.

Preconiza-se também o não compartilhamento de agulhas e seringas entre os usuários de drogas, além da não utilização de instrumentos que possam conter sangue durante procedimentos de acupuntura, tatuagem, colocação de *piercing* e manicure. Além disso, o uso compartilhado de material cortante de higiene pessoal não é recomendado.

Nos bancos de sangue e nas doações de órgãos para transplante, obrigatoriamente todos os doadores são submetidos à triagem sorológica para a pesquisa de infecção por HIV, vírus linfotrópico de células T humanas (HTLV), HBV e HCV. É necessária a triagem pré-natal, aliada a campanhas de esclarecimento quanto ao risco de transmissão pelo aleitamento materno

no caso das hepatites B e C, HIV e HTLV, assim como às práticas de biossegurança no uso de EPIs em ambientes de risco. Esta última orientação, associada ao uso preventivo de antivirais, é ainda mais relevante para os profissionais da saúde que manuseiam agulhas e material perfurocortante em ambiente hospitalar e laboratorial.

A seguir, são apresentadas as medidas específicas que devem ser realizadas na prevenção de infecções virais transmitidas por via sexual e parenteral.

HIV

Apesar do sucesso no controle de várias infecções virais por meio da vacinação, as particularidades do processo de desenvolvimento de vacinas e os mecanismos geradores de diversidade de determinados vírus dificultam o surgimento de uma vacina eficaz. Nesse sentido, o HIV é um dos melhores exemplos, visto que a alta variabilidade genética do vírus dificulta a identificação de antígenos imunogênicos e conservados o suficiente para gerar uma imunidade longa e duradoura. Além disso, sua alta patogenicidade impossibilita o uso de vírus inativados ou atenuados na vacinação.

Diversas pesquisas nas quais se busca desenvolver uma vacina contra a infecção pelo HIV têm sido realizadas ao longo dos anos. Resultados positivos foram descritos pela primeira vez em 2009, como parte do estudo RV144, no qual uma eficácia de 31% da vacina em prevenir a infecção foi observada. Apesar de baixa proteção, esse foi o primeiro relato de uma vacina eficiente e capaz de conferir algum nível de proteção aos indivíduos vacinados.

As medidas mais específicas na prevenção da infecção pelo HIV pela via vertical são: a realização do acompanhamento pré-natal; a administração imediata de medicamentos antirretrovirais (ARVs), a fim de reduzir a carga viral da gestante; a escolha da cesariana eletiva quando as mulheres são diagnosticadas tardiamente; a administração de ARVs para o bebê após o nascimento como medida profilática; desestímulo à amamentação caso a mãe não tenha iniciado o uso de ARVs precocemente. O bebê deve receber AZT solução oral, preferencialmente ainda na sala de parto, logo após os cuidados imediatos, ou nas primeiras 4 horas após o nascimento,

devendo ser mantido o tratamento durante as primeiras 4 semanas de vida Essa combinação de medidas permitiu atingir níveis próximos a zero de transmissão vertical do HIV no Brasil.

Devido ao alto número de novas infecções pelo HIV, mesmo após a expansão de políticas de controle epidemiológico, o potencial preventivo do uso de ARVs começou a ser estudado. O Brasil foi um dos pioneiros no uso da terapia antirretroviral combinada (cART) na prevenção da transmissão do HIV. Dessa forma surgiu a profilaxia pré-exposição (PrEP), que tem como objetivo diminuir a chance de infecção de indivíduos cujo comportamento aumenta o risco de infecção, como aqueles que praticam atividade sexual com parceiros soropositivos, homens que fazem sexo com homens e usuários de drogas injetáveis.

Essa metodologia de prevenção é baseada no que é praticado na profilaxia pós-exposição (PEP), que consiste na utilização de uma combinação de ARV durante 28 dias, iniciada em até, no máximo, 72 horas após a exposição a um evento de risco de infecção. Essa forma de tratamento é indicada para casos de exposição a material biológico contaminado durante acidentes de trabalho, episódios de atividade sexual sem proteção (sendo amplamente recomendável após casos de violência sexual) ou compartilhamento de agulhas durante o uso de drogas injetáveis. A PEP é utilizada desde os anos 1990, e estudos realizados com indivíduos que adotaram essa estratégia após experiências de risco e que tiveram uma aderência adequada ao medicamento demonstraram baixo nível de soroconversão.

A PrEP consiste no uso de inibidores da transcriptase reversa (Quadro 4) de maneira regular ou anterior a eventos de exposição ao vírus. Dessa forma, novas infecções podem ser prevenidas, com impedimento do estabelecimento dos reservatórios virais e da soroconversão. A utilização da PrEP em determinados grupos-chave para infecção pelo HIV já foi avaliada em uma série de estudos clínicos, e comprovou-se sua eficácia. A PrEP é disponibilizada gratuitamente pelo SUS. No entanto, apesar da sua comprovada eficiência, o uso regular da combinação de tenofovir e emtricitabina deve ser acompanhado de uma série de cuidados, considerando que: o uso da PrEP não é totalmente eficiente; não exclui a

necessidade de outras medidas de prevenção, como o uso de preservativo durante relações sexuais; o uso irregular ou incorreto do medicamento diminui a eficácia e não garante a proteção; e as funções hepáticas e renais devem ser regularmente avaliadas devido ao risco de efeitos colaterais.

Hepatite B

A incidência do HBV vem diminuindo graças às medidas de saúde pública, que levam a mudanças de comportamentos de risco e contribuem para a diminuição da sua transmissão. Além das recomendações gerais para o controle de doenças de tramissão sexual e parenteral já mencionadas, os projetos de educação em saúde e a imunização contribuem para a prevenção de hepatite B.

No Brasil, desde 1998, o Ministério da Saúde recomenda a vacinação das crianças contra hepatite B a partir do nascimento. Atualmente, a vacina está disponível para todas as pessoas não vacinadas, independentemente da idade. Para crianças, a recomendação é que se façam quatro doses da vacina, sendo: ao nascer, aos 2, 4 e 6 meses de idade (vacina pentavalente). Para a população adulta, o esquema completo se dá com aplicação de três doses.

A administração da vacina contra hepatite B dentro de 24 horas após o nascimento é 90% a 95% eficaz na prevenção da infecção e na diminuição da sua transmissão, se for seguida por, pelo menos, duas outras doses. A OMS recomenda a vacinação universal contra HBV para todos os bebês. Essa estratégia resultou em uma redução drástica na incidência e na prevalência de HBV crônica entre crianças pequenas em regiões onde programas universais de vacinação infantil foram implementados.

Dados da OMS apontam para um grande número de países com boa cobertura vacinal das três doses, chegando a uma cobertura global de 84% em 2015. O Brasil apresenta mais de 90% de cobertura vacinal em menores de 1 ano, o que não é realidade em todos os estados.

Outra medida estratégica é a administração de imunoglobulina humana anti-hepatite B, que é indicada para imunoprofilaxia pré- e pós-exposição; prevenção da infecção perinatal pelo vírus da hepatite B; exposição sanguínea acidental, percutânea ou de mucosa; transplantados

de fígado que apresentavam HBV; comunicantes sexuais de casos agudos de HBV e vítimas de abuso sexual.

Hepatite C

Um dos objetivos do plano de combate às hepatites virais até 2030 é eliminar a hepatite C. As estratégias da OMS contam com a diminuição dos comportamentos de risco, o acesso ao diagnóstico e ao tratamento adequado. Essas medidas são fundamentais para que as taxas de incidência da infecção sejam reduzidas e, consequentemente, ocorra a diminuição dos casos de doenças hepáticas relacionadas ao HCV em todo o mundo. Essas ações devem ser tomadas para a população em geral e principalmente nas populações específicas, como os usuários de drogas injetáveis e população carcerária, uma vez que entre estas populações a prevalência do HCV é maior.

Até o momento não existe disponível uma vacina contra a hepatite C. A principal forma de prevenção é reduzir o comportamento de risco, não compartilhando agulhas e seringas, usando preservativo em relações sexuais e adotando medidas de biossegurança para coleta e doação de sangue, como já foi dito.

Herpes

A infecção por HSV-1 ou 2 é de difícil controle devido à sua elevada transmissibilidade. A detecção precoce da doença é importante para o controle da transmissão. Dessa maneira, o encaminhamento dos contactantes para unidades de saúde e a orientação adequada quanto às medidas de prevenção são fundamentais.

Os preservativos masculinos e femininos protegem contra a infecção apenas nas áreas de pele que recobrem. Dessa forma, a transmissão pode ocorrer a partir de lesões na base do órgão genital masculino, na bolsa escrotal ou em áreas expostas da vulva.

HTLV

Em relação ao HTLV, como medidas de prevenção e controle, preconiza-se a utilização de preservativos durante a relação sexual, uso de agulhas e seringas descartáveis, triagem sorológica em doadores de sangue

e triagem pré-natal aliada a campanhas de esclarecimento quanto ao risco de transmissão pelo leite materno. Não existe tratamento preventivo nem solução terapêutica para eliminar o vírus completamente do organismo infectado. O prognóstico depende do tempo de evolução e da presença de outras infecções.

HPV

Além do uso de preservativo sexual, a vacinação contra o papilomavírus é uma medida que se encontra disponível. Trata-se de uma vacina quadrivalente que confere imunidade contra os HPVs dos tipos 6 e 11, que são responsáveis pela maior parte das verrugas genitais, e dos tipos 16 e 18, responsáveis pela maior parte dos cânceres associados. O diagnóstico preventivo, pela realização anual do exame preventivo Papanicolau pelas mulheres, e a educação em saúde são também métodos importantes na prevenção da doença e do câncer do colo do útero.

Viroses transmitidas por artrópodes (mosquitos)

Com exceção da febre amarela, até a presente data não existe vacina disponível no PNI para o controle das arboviroses no território brasileiro. Assim, para dengue, zika e chicungunha, as medidas de controle são voltadas exclusivamente para os vetores, o único elo vulnerável da cadeia epidemiológica. Dessa forma, o controle está centrado na redução da densidade vetorial por meio da eliminação dos locais de procriação dos mosquitos, o uso de inseticidas, repelentes, uso de roupras compridas e redes protetoras. Além disso, a realização de campanhas populares de conscientização acerca das condições que estimulam a geração de criadouros dos mosquitos também é crucial para o controle vetorial. Adicionalmente, a exposição aos mosquitos pode ser diminuída com o uso de roupas compridas.

Considerando que o Brasil é um local com circulação dos quatro sorotipos de vírus da dengue (DENV) e que tem clima favorável à procriação dos vetores, medidas alternativas têm sido pesquisadas para combater as epidemias que ocorrem sazonalmente nos verões. Uma dessas medidas de controle vetorial adotada no país veio a partir da experiência australiana

com mosquitos *Aedes aegypti* infectados com a bactéria *Wolbachia pipientis*. Exemplares infectados têm sido liberados em diferentes regiões do Brasil como parte do projeto intitulado World Mosquito Program Brasil, que vem sendo desenvolvido em uma parceria da Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz) com o Ministério da Saúde. Com a capacidade de transmitir os arbovírus reduzida, os mosquitos infectados por *Wolbachia* liberados na natureza, em contato com mosquitos de campo, geram prole com as mesmas características, isto é, com reduzida capacidade de transmitir os vírus da dengue, zika e chicungunha, ou seja, em princípio é uma estratégia de controle autossustentável.

A partir de 2010, a estratégia com mosquitos geneticamente modificados, estéreis, teve a avaliação dos seus riscos e da sua efetividade em pesquisas de campo em Juazeiro e em Jacobina, na Bahia, e em Piracicaba, São Paulo. Resultados preliminares mostraram que, após a liberação dos mosquitos transgênicos em Juazeiro, na Bahia, houve redução de 80% a 95% da população de *Aedes aegypti*. Em abril de 2014, a OX513A, uma cepa de mosquitos transgênicos produzida pela empresa britânica Oxitec, recebeu aprovação técnica da Comissão Técnica Nacional de Biossegurança (CTNBio) para liberação comercial no Brasil. Uma alternativa de controle vetorial é a técnica de esterilização de insetos por irradiação. Insetos machos são tratados com uma dose mínima de raios gama ou raios X, induzindo rearranjos cromossômicos aleatórios para, assim, promover sua esterilização. Os acasalamentos desses machos estéreis com fêmeas selvagens nativas levariam a uma redução do potencial reprodutivo das fêmeas, contribuindo para a supressão ou eliminação da população de vetores local. As duas abordagens, esterilização genética ou irradiação, têm efeito local e pontual, necessitando de repetidas liberações em campo dos machos tratados.

Outra estratégia que começou a ser implementada em 2014, em parceria da Fiocruz com o Ministério da Saúde, e que já está sendo adotada em várias cidades brasileiras, de todo o país, são as estações disseminadoras de larvicidas. Essas estações disseminadoras de larvicida são baldes plásticos, cobertos com pano preto impregnado de larvicida e uma quantidade de água para atrair os mosquitos. Os mosquitos atraídos para a superfície da estação, que contém partículas do larvicida, levam para outros criadouros

essa substância que fica aderida às suas patas e ao seu corpo. Dessa forma, esses vetores conseguem matar larvas e pupas de diferentes criadouros. Essa é uma estratégia de controle de fácil compreensão e execução pelos agentes de saúde.

A prevenção da febre amarela é realizada pela vacinação a partir do vírus atenuado (cepa 17D) da febre amarela cultivado em ovos embrionados de galinha. Desde 2017, a vacina é aplicada em uma única dose, com recomendação universal a partir dos 9 meses de idade. Essa vacina é inoculada por via subcutânea e deve ser aplicada pelo menos dez dias antes do deslocamento para áreas de risco, já que induz anticorpos neutralizantes em sete a dez dias, protegendo o indivíduo por toda a vida. Desde 2020, a vacinação contra a febre amarela é recomendada em todo o território nacional. É uma das vacinas mais seguras que se conhece. A mortalidade por febre amarela pode chegar de 20% a 50%, enquanto os efeitos adversos da vacina são da ordem de um a cada 400 mil. Mesmo assim, é necessário notificar a ocorrência de reações adversas; além disso, óbitos que ocorram em até trinta dias depois da vacinação precisam ser investigados quanto à possibilidade de estarem associados à vacina. Antes de quatro semanas da vacinação, a doação de sangue não deve ser realizada.

Viroses emergentes e reemergentes associadas a roedores e outros mamíferos silvestres

Por serem doenças zoonóticas, com exceção da raiva, não existem vacinas disponíveis no Brasil até a presente data, embora uma vacina contra o mammarenavírus Junín (denominada Candid#1) faça parte do calendário de vacinação na Argentina.

Em relação à raiva, um dos pontos fundamentais para a sua prevenção é a vacinação de animais domésticos, que são a fonte de infecção mais próxima do homem. A PrEP é indicada para indivíduos que estejam em exposição permanente a infecções pelo vírus da raiva. São estes: veterinários, médicos, biólogos, mastozoólogos, profissionais que atuam na captura, identificação e vacinação de animais, funcionários de zoológicos, carteiros. Outro método simples e de baixo custo é o investimento em educação em

saúde, distribuição de cartazes e panfletos explicativos para a população e profissionais da saúde. Em países desenvolvidos, os esforços estão voltados para o controle da raiva silvestre, uma vez que, nesses países, a raiva urbana encontra-se sob controle.

A OMS preconiza que, ao ser mordido, o indivíduo deve lavar o local da ferida com água abundante e sabão. Esse é o procedimento mais eficaz e simples para se prevenir da infecção.

Quanto aos robovírus, como a ocorrência de casos humanos está relacionada ao contato com os animais, as medidas de controle são direcionadas para os ambientes que possam abrigar tocas e ninhos de roedores. Entre as orientações está ventilar locais fechados por longos períodos e limpar áreas infestadas de roedores, utilizando equipamentos de proteção individual, como luvas de borracha e máscaras, com solução de hipoclorito ou desinfetante de superfícies. Além disso, também é importante escolher adequadamente os locais para a prática de atividades externas, sejam ocupacionais ou recreativas, evitando contato com os roedores e suas excretas.

A erradicação do reservatório é inviável, em decorrência da abundância das espécies hospedeiras e da sua grande dispersão, além de sua importância para o equilíbrio do ambiente.

Tratamento

Considerando que, na maioria das doenças virais, o tratamento é basicamente de suporte, baseado na hidratação e no uso de antitérmicos, analgésicos, entre outras medidas genéricas, sem uma terapia antiviral específica, nesta seção serão apresentados brevemente os procedimentos terapêuticos preconizados para as principais viroses que acometem a população humana, com ênfase naquelas que circulam no Brasil. De forma geral, os antivirais que se encontram disponíveis para tratamento estão voltados para as viroses de transmissão parenteral e sexual, como a infecção pelo HIV e as hepatites B e C.

Viroses de transmissão hídrica

O tratamento das gastroenterites causadas por rotavírus, norovírus, além dos outros vírus causadores de gastroenterites, tem como base a reposição hidroeletrolítica para combater a desidratação decorrente dos vômitos e da diarreia. Antimicrobianos, assim como medicamentos antidiarreicos e antieméticos, não devem ser utilizados. Probióticos, embora sem comprovação de sua eficácia, têm sido utilizados, assim como a vitamina A em crianças desnutridas e com deficiência vitamínica. A possibilidade de coinfecção e a presença de parasitas intestinais, como giárdia e áscaris, devem ser consideradas e seu tratamento específico instituído.

Quanto à hepatite A, embora também não haja tratamento específico, a administração de vitamina K, diante da elevação do tempo de atividade de protrombina, pode ser realizada, assim como o uso de corticosteroides e drogas antipruriginosas na forma colestática com intenso prurido.

Viroses de transmissão respiratória

Em relação à influenza, o tratamento com antivirais, além de diminuir as manifestações clínicas e encurtar a duração da doença, pode prevenir complicações relacionadas aos vírus, como a pneumonia. Contudo, a comercialização desses antivirais é controlada pela OMS para evitar o surgimento de resistência. Os medicamentos disponíveis são os inibidores da hemaglutinina, como a amantadina e rimantadina, que atuam inibindo o processo de fusão do vírus com a célula e são usados para tratamento de influenza do gênero A, apenas em pacientes de alto risco. Os inibidores do sítio ativo da neuraminidase viral – oseltamivir (Tamiflu®) e zanamivir –, por sua vez, são usados para tratamento de influenza dos gêneros A e B.

A covid-19, por ser uma doença emergente, que surgiu no fim de 2019, tem seu painel de medicamentos aprovados continuamente atualizado pela Anvisa. Inicialmente, os fármacos aprovados para uso foram os utilizados para o tratamento dos principais sintomas da doença, como antitérmicos e analgésicos. Para casos em que havia infecções associadas, recomendava-se usar agentes antimicrobianos (antibióticos). Em pacientes hospitalizados,

com síndrome respiratória aguda grave, além de antibióticos para tratar infecções secundárias, foram utilizadas medidas de suporte de unidades de terapia intensiva, uso de corticoides para reduzir a fibrose pulmonar e heparina para controlar as respostas coagulatórias. Todas essas orientações de tratamento foram previstas no Protocolo de Manejo Clínico para o Novo Coronavírus, do Ministério da Saúde. Até agosto de 2022, a Anvisa já havia aprovado o registro de alguns antivirais, anticorpos monoclonais e inibidores de enzimas importantes para o tratamento de pacientes com diferentes graus de progressão para a doença; são eles: o antiviral remdesivir (recomendado a pacientes hospitalizados), o anticorpo monoclonal sotrovimabe (recomendado a pacientes leves a moderados em risco de progressão para o estágio grave da doença) e o inibidor de enzimas baricitinibe (recomendado a pacientes hospitalizados). O monitoramento de reações adversas dos medicamentos aprovados e os testes com outras drogas estão sendo realizados, e toda atualização ou mudança é registrada quase diariamente no site do Ministério da Saúde (https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/paf/coronavirus/medicamentos).

No que diz respeito à metapneumovirose, caso haja algum agravamento e o indivíduo seja hospitalizado, é necessário fornecer oxigenação suplementar e hidratação intravenosa. Como medicação, pode ser fornecida ribavirina e administrada a imunoglobulina humana específica para amenizar os sintomas.

Para o sarampo não há tratamento específico, e antibiótico só deve ser administrado quando há infecção bacteriana secundária. O tratamento com vitamina A reduz complicações e mortalidade pelo sarampo.

Assim como para o sarampo, para a rubéola não há tratamento específico. Quanto à síndrome da rubéola congênita (SRC), o tratamento se limita à reabilitação e cirurgias voltadas para alterações congênitas.

Em relação à parotidite epidêmica, o tratamento consiste no uso de sintomáticos e alimentação adequada, considerando a intolerânca a alimentos ácidos, além de boa higiene bucal. Mesmo procedimento nos casos de comprometimento do sistema nervoso – meningoencefalites.

Para tratar a varicela ou o herpes-zóster, recomenda-se o uso de sintomáticos, antialérgicos e compressa de água fria nas lesões. Além disso, é importante ter cuidados com a higiene e não utilizar ácido acetilsalicílico (AAS). Em caso de infecção bacteriana secundária, é necessário iniciar o antibiótico contra bactérias Gram-positivas. Preconiza-se o tratamento com aciclovir nos casos graves e situações específicas, como doenças pulmonares crônicas, indivíduos em uso de corticoide e de AAS por longo tempo. Em pacientes com herpes-zóster, sem gravidade, o tratamento é com base em antitérmico, analgésico que não seja AAS e anti-histamínico. Uso de antivirais como aciclovir, fanciclovir e valaciclovir proporcionam uma melhora acentuada na sintomatologia. Antibióticos podem ser prescritos em caso de infecção bacteriana secundária.

Viroses de transmissão parenteral e sexual

Hepatite B

Não existe tratamento específico para a forma aguda da hepatite B, e o principal objetivo do tratamento da hepatite crônica é reduzir a replicação viral antes que ocorram danos irreversíveis ao fígado. No entanto, é preciso considerar que a decisão de tratar o paciente com hepatite B crônica deve ter como base, além do histórico pessoal, comorbidade e casos de carcinoma hepático na família, dados laboratoriais que demonstrem aumento sérico de alanina aminotransferase (ALT), um perfil sorológico com HbeAg e HBV-DNA e análise histopatológica. É preciso considerar, diante da decisão de tratamento, a presença de coinfecção pelos vírus da hepatite delta, HIV e hepatite C, assim como a presença de manifestações extra-hepáticas, como artrite, vasculites, poliarterite nodosa, glomerulonefrite. Ainda é preciso identificar contraindicações para o tratamento, como o consumo de drogas e de álcool, história de neoplasia, distúrbios psiquiátricos e cardiopatias graves. Os medicamentos aprovados pela Food and Drug Administration (FDA) para HBV crônica incluem interferons, análogos de nucleosídeos (entecavir, lamivudina, telbivudina) e análogos de nucleotídeos que bloqueiam a ação da enzima transcriptase reversa (adefovir, tenofovir). No Quadro 2, encontram-se listados os medicamentos para tratamento da

hepatite B segundo o Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para Hepatites B e Coinfecções (PCDT) do Ministério da Saúde, de 2017. Em relação à hepatite B crônica, o tenofovir, por ser bem tolerado, é a droga de escolha para tratar pacientes que atendam aos critérios de inclusão de tratamento. No entanto, por estar associado à desmineralização óssea e ao comprometimento renal, está contraindicado para pacientes com doença renal crônica, doenças do metabolismo ósseo e portadores de coinfecção HIV/HCV em terapia antirretroviral (TARV) com didanosina.

Quadro 2 – Medicações disponíveis no tratamento da hepatite B crônica segundo o PCDT do Ministério da Saúde, 2017

Antiviral	Observações
Alfainterferona	Citocinas com ação antiviral, antiproliferativa e imunomoduladora
Alfapeginterferona	
Tenofovir	Elevada potência de supressão viral e alta barreira genética de resistência contra as mutações do HBV
Entecavir	Opção para os casos onde houver contraindicação ao uso do tenofovir, ou comprometimento renal, e para pessoas em tratamento de imunossupressão e quimioterapia.

Inibição da replicação viral.

Facilidade com que o vírus desenvolve resistência diante dos medicamentos em uso pelo paciente.

Hepatite C

Atualmente, o tratamento da hepatite C é universal e indicado para todas as pessoas infectadas pelo vírus, exceto menores de 3 anos, pacientes com hipersensibilidade ou intolerância aos tratamentos previstos no PCDT, bem como pacientes com baixo prognóstico de sobrevivência. Entre estes últimos, incluem-se pacientes oncológicos com cirrose Child-Pugh B ou C, pacientes adultos com cirrose descompensada e indicação de transplante hepático com MELD *score* (*model for end-stage liver disease*) ≥ 20 e pacientes com expectativa de vida inferior a 12 meses em razão da hepatopatia e outras comorbidades. Para esses casos, o tratamento individualizado pode ser realizado quando o tempo de espera na fila de transplante for superior a seis meses ou se existir remissão oncológica, por exemplo.

O tratamento atual consiste no uso de antivirais de ação direta (DAAs, do inglês *direct-acting antivirals*), que têm grande efetividade terapêutica.

Para indivíduos com monoinfecção crônica e aguda pelo HCV ou coinfecção HCV/HIV, o Ministério da Saúde preconiza a administração dos DAAs e da ribavirina, de forma a obter ausência de HCV-RNA na 12ª ou 24ª semana pós-tratamento, caracterizando uma resposta virológica sustentada (RVS). O tipo de DAA utilizado e a duração do tratamento, que pode variar entre oito e 16 semanas, são baseados no genótipo viral. No Quadro 3, estão apresentados alguns DAAs recomendados para tratamento de hepatite C.

Quadro 3 – Medicações disponíveis para o tratamento da hepatite C segundo o PCDT do Ministério da Saúde, 2019

Antiviral	Observações
Alfapeginterferona 2a	Recomendado a crianças entre 3 e 11 anos. Não tem ação antiviral direta.
Daclatasvir	Interfere na replicação viral. Uso associado com outro antiviral.
Elbasvir	Impede a transcrição do HCV-RNA. Uso associado com grazoprevir.
Glecaprevir	Inibidor pan-genotípico da protease NS3/4A para o HCV; NS3/4A é proteína necessária para a clivagem proteolítica da poliproteína do HCV em proteínas NS3, NS4A, NS5A e NS5B.
Ledipasvir	Inibidor do HCV voltado à proteína NS5A do HCV.
Filgrastin	Indicado para neutropenia.
Ribavirina	Análogo à guanosina; o mecanismo de ação ainda não é totalmente conhecido.
Sofosbuvir	Inibe a polimerase NS5B do HCV.
Velpatasvir	Atua na proteína NS5A do HCV, interferindo na replicação do RNA e na agregação de vírions.

Herpes

A droga de escolha para o tratamento é o aciclovir, um derivado purínico análogo à guanosina, inibidor da síntese de DNA. As doses e as vias de aplicação – tópica, oral ou venosa – dependem do quadro clínico e da localização da infecção. No entanto, tem sido identificada resistência, principalmente em pacientes imunodeprimidos, com aids, e, por essa razão, podem ser administradas drogas alternativas como valaciclovir e fanciclovir, além de foscarnet – análogo ao ácido fosfonoacético. Na infecção recorrente, o tratamento profilático pode ser realizado com creme dermatológico contendo aciclovir.

HIV

A TARV tem como objetivo suprimir a replicação do HIV através da inibição das enzimas do ciclo viral, prevenindo a infecção de novas células e permitindo a reconstituição do sistema imunológico. Isso é alcançado por meio da redução da carga viral a níveis indetectáveis (<40 cópias/mL de plasma) pelo maior período de tempo possível, evitando o aparecimento de doenças oportunistas e, assim, melhorando a qualidade de vida do indivíduo infectado. Além de suprimir a replicação do HIV a níveis indetectáveis no sangue, a TARV também evita a progressão da doença e o aparecimento de infecções oportunistas. Com as estratégias terapêuticas atualmente adotadas, também se visa a melhorar a qualidade de vida do indivíduo infectado e prevenir a transmissão viral. Atualmente há 27 drogas antirretrovirais cuja formulação envolve 202 fármacos separados ou combinados aprovados pela FDA e disponíveis para o tratamento dos pacientes infectados pelo HIV. Esses fármacos que compõem a TARV atuam bloqueando diferentes etapas do ciclo replicativo do HIV e encontram-se divididos em seis classes: inibidores da transcriptase reversa análogos de nucleosídeos e nucleotídeos (ITRN); inibidores da transcriptase reversa não análogos de nucleosídeos (ITRNN); inibidores da protease (IP); inibidores da integrase (IIN); inibidores de fusão (IF); e antagonistas do correceptor CCR5 (Quadro 4).

Quadro 4 – ARVs aprovados pela FDA, distribuídos em seis classes de acordo com o mecanismo molecular de atuação de cada fármaco

Inibidores da transcriptase reversa análogos de nucleosídeos/nucleotídeos (ITRN)		
Nome comercial	Príncipio ativo (sigla)	Comentários gerais
Retrovir®	zidovudina (AZT)	Atuam como miméticos de nucleosídeos e nucleotídeos. São capazes de se ligar ao sítio ativo da enzima transcriptase reversa (domínio polimerase), impedindo a formação da cadeia de DNA viral.
Videx®	didanosina (ddl)	
Hivid®	zalcitabina* (ddC)	
Zerit®	estavudina (d4T)	
Epivir®	lamivudina (3TC)	
Ziagen®	abacavir (ABC)	
Viread®	tenofovir (TDF)	
Emtriva®	emtricitabrina (FTC)	

Quadro 4 – ARVs aprovados pela FDA, distribuídos em seis classes de acordo com o mecanismo molecular de atuação de cada fármaco (cont.)

Inibidores da transcriptase reversa não nucleosídeos (ITRNN)		
Viramune®	nevirapina (NVP)	Ligam-se à bolsa hidrofóbica da enzima transcriptase reversa, modificando sua estrutura alostericamente e prejudicando seu sítio catalítico no domínio polimerase. Dessa forma, o fármaco impede que a enzima reconheça o RNA a ser transcrito.
Rescriptor®	delavirdina*(DLV)	
Sustiva®	efavirenz (EFV)	
Intelence®	etravirina (ETR)	
Edurant®	rilpivirina*(RPV)	
Inibidores da protease (IP)		
Invirase®	saquinavir (SQV)	Atuam inibindo a enzima protease, responsável por clivar a poliproteína precursora de Gag-Pol durante a maturação de novos vírions. Os IPs reproduzem peptídeos virais que se ligam ao sítio ativo da protease, evitando sua ação.
Crixivan®	indinavir (IDV)	
Viracept®	nelfinavir (NFV)	
Agenerase®	amprenavir*(APV)	
Kaletra®	lopinavir/ritonavir (LPV/r)	
Reyataz®	atazanavir (ATV)	
Lexiva®	fosamprenavir*(FTC)	
Aptivus®	tipranavir (TPV)	
Prezista®	darunavir (DRV)	
Inibidores da integrase (IIN)		
Isentress®	raltegravir (RTG/RAL)	Atuam ligando-se à proteína integrase, impedindo a integração do DNA viral ao genoma do hospedeiro.
Tivicay®	dolutegravir (DTG)	
Vitekta®	elvitegravir*(EVG)	
Inibidor de fusão (IF)		
Fuzeon®	enfuvirtida (T-20)	Compostos de pequenos peptídeos que se ligam à gp41, a proteína do envelope viral, impedindo a fusão da membrana viral com a da célula hospedeira.
Inibidor de entrada – antagonista de CCR5		
Celsentri®	maraviroque (MVQ)	Pequenos peptídeos que interagem com os correceptores CCR5 da célula hospedeira, impedindo que estes interajam com as glicoproteínas virais no processo de entrada do vírus na célula.

Os medicamentos marcados com o asterisco (*) não estão disponíveis no Brasil.

No Brasil, o Ministério da Saúde oferece gratuitamente, pelo SUS, o acompanhamento clínico, com exames de monitoramento do sistema imunológico (contagem de linfócitos T $CD4^{+}$), da capacidade replicativa (carga viral plasmática) e resistência aos ARVs (genotipagem), e a TARV em nível nacional para os pacientes infectados pelo HIV-1. Atualmente, o Brasil utiliza esquemas terapêuticos com dois ITRN associados a um ARV de outra classe (ITRNN, IP ou IIN), sendo preferencialmente adotada a combinação de lamivudina, tenofovir e dolutegravir. Exceções a esse esquema devem ser observadas para casos de coinfecção tuberculose/ HIV (TB-HIV), mulheres com possibilidade de engravidar e gestantes em situações especiais de intolerância ou contraindicação.

Desde 2014, o Brasil adotou as novas diretrizes internacionais recomendadas pela Unaids (Programa Conjunto das Nações Unidas sobre HIV/aids), preconizando o acesso imediato à TARV para todos os indivíduos infectados pelo HIV, logo após a confirmação do diagnóstico positivo. Essa estratégia estabeleceu novas metas de controle da infecção pelo HIV, tornando-se o pilar central de um esforço global pelo fim da epidemia de aids até 2030, as denominadas "metas 90-90-90", as quais pactuavam que, até 2020, 90% das pessoas infectadas pelo HIV no mundo tivessem sido diagnosticadas, 90% dos indivíduos diagnosticados estivessem em TARV e 90% dos indivíduos tratados com TARV tivessem viremia suprimida. Mundialmente, houve ganhos notáveis em toda a cascata de testes e tratamento de HIV. No entanto, diversos países falharam em alcançar estas metas. Em 2021, novas metas globais para o fim da epidemia de aids foram estipuladas pela Unaids ("metas 95-95-95"), passando a considerar cinco pontos percentuais a mais, ou seja, que 95% das pessoas vivendo com HIV saibam do diagnóstico; destas, 95% estejam em TARV; e, destas, 95% estejam com carga viral indetectável.

O início precoce da TARV tem demonstrado benefícios na redução da morbimortalidade dos pacientes infectados, na incidência da tuberculose (principal causa infecciosa de óbitos em indivíduos infectados pelo HIV), e na disponibilidade de opções terapêuticas mais bem toleradas. Além disso, na última década estudos concluíram que a supressão viral também diminui a transmissibilidade do vírus por meio de relações sexuais com indivíduos infectados pelo HIV.

A falha terapêutica, caracterizada por cargas virais plasmáticas superiores a 500 cópias/mL em dois exames consecutivos em um intervalo de quatro semanas, deve ser confirmada por meio da genotipagem, via sequenciamento genético, da região da protease/transcriptase reversa do HIV-1. A genotipagem também é preconizada em condições pré-tratamento para gestantes e crianças infectadas pelo HIV, para indivíduos que tenham se infectado com parceiro em uso de TARV e para indivíduos coinfectados TB-HIV.

Viroses transmitidas por artrópodes (mosquitos)

O tratamento das quatro arboviroses de importância no Brasil – febre amarela, dengue, chicungunha e zika –, é basicamente de apoio e sintomático, com repouso, hidratação e utilização de antieméticos para aliviar as manifestações clínicas nas formas leves e moderadas. Não se recomenda o uso de AAS para evitar o risco de sangramento e de síndrome de Reye, assim como da dipirona, pela possibilidade de causar exantema. A indicação é utilizar paracetamol nas doses e intervalos prescritos pelo médico, uma vez que doses altas podem causar lesão hepática.

> Condição rara que afeta, na maioria das vezes, crianças e adolescentes em recuperação de uma infecção viral, como gripe ou varicela. O uso de medicamentos que contenham ácido acetilsalicílico tem sido relacionado com esta síndrome.

Nas formas graves de dengue e febre amarela, é importante a reposição de fluidos e de eletrólitos, assim como a administração de plasma e concentrado de plaquetas, plasma fresco ou sangue total, no caso de hemorragia. Medidas de suporte são indicadas para o tratamento da insuficiência hepática e renal, além da redução do edema cerebral e combate às infecções bacterianas secundárias e hemorragias, e, no caso de sangramentos graves, usa-se plasma fresco ou sangue total.

Quanto às manifestaçõs da infecção por chicungunha, com o objetivo de minimizar as dores articulares graves e persistentes, preconiza-se o uso de anti-inflamatórios não esteroides (AINEs) e glicocorticoides sistêmicos, além de hidroxicloroquina, sulfassalazina e metotrexato na fase crônica.

A infecção por vírus da chicungunha (CHIKV) pode não ser específica ou coexistir com DENV ou vírus da zika (ZIKV) e, de acordo com as diretrizes da OMS, o paracetamol é o tratamento analgésico de primeira

linha. A aspirina ou outros AINEs devem ser evitados devido aos seus efeitos adversos e ao aumento do risco de distúrbios hemorrágicos nos casos de coinfecção por DENV.

Viroses emergentes e reemergentes associadas com roedores e outros mamíferos silvestres

No que se refere à raiva, a OMS preconiza que, ao ser mordido, deve-se lavar o local da ferida com água abundante e sabão. Pacientes com arranhões superficiais ou mordidas sem sangramento devem receber, como tratamento pós-exposição, a vacinação imediata. Em caso de mordida única ou múltiplas, transdérmicas, com presença de sangue, contato de pele lesionada ou mucosas com saliva de animais provavelmente contaminados ou animal silvestre, recomenda-se a administração de imunoglobulinas antirrábicas e vacinação do indivíduo. É importante avaliar as características do animal envolvido no acidente, antes e dez dias após, no caso de animais domésticos. Vários tratamentos antivirais já foram testados, mas nenhum agente se mostrou eficaz nos casos de raiva. Dessa forma, o procedimento tem se baseado no suporte de unidades de terapia intensiva com sedação. No entanto, em 2004, um tratamento para raiva foi proposto – o Protocolo de Milwaukee – com utilização de agentes antiexcitatórios, anticonvulsivantes, sedativos e antivirais. Posteriormente, no Brasil, em 2008, foi instituído um protocolo similar ao de Milwaukee – o Protocolo de Recife – adaptado à realidade brasileira, composto de ketamina, midazolam, amantadine, vitamina C, biopterina e hidrocortisona.

Por sua vez, no caso de poxvirose, os tratamentos medicamentosos existentes até o momento são experimentais, e o manejo da infecção consiste no cuidado e higienização das lesões que surgem na pele, de modo a prevenir infecções bacterianas secundárias, e na administração de analgésicos e antipiréticos em caso de dor e febre. Entre as drogas com possível eficácia disponíveis, o tecovirimat, um inibidor da proteína VP37 desenvolvido para tratamento da varíola humana, tem sido utilizado em alguns países para tratamento da infecção por *monkeypox* em indivíduos com risco de progressão para formas graves da doença.

No caso da síndrome pulmonar por hantavírus, não existem antivirais que sejam aplicáveis para o tratamento dessa infecção. A terapêutica baseia-se em medidas de manutenção do estado geral e, com frequência, no suporte mecânico ventilatório com intubação traqueal e assistência hemodinâmica. Diante da suspeita de infecção por hantavírus, deve-se tomar cuidado com a administração intravenosa de fluidos no paciente, principalmente em áreas endêmicas da dengue, considerando a similaridade clínica nos primeiros dias de doença. A hidratação preconizada para esta arbovirose pode agravar o quadro de edema pulmonar em pacientes com dengue, aumentando a taxa de letalidade.

O tratamento da arenavirose é realizado de acordo com o quadro clínico apresentado pelo paciente e com suporte de ribavirina endovenosa, além do tratamento com a administração de plasma hiperimune, terapia utlizada com sucesso na febre hemorrágica argentina, causada pelo vírus Junín.

Bibliografia
Consultada/Sugerida

HIV

ARTS, E. J. & HAZUDA, D. J. HIV-1 Antiretroviral drug therapy. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 2(4): a007161, 2012. Disponível em: <doi:10.1101/cshperspect.a007161>. Acesso em: 8 abr. 2022.

BRASIL. Ministério da Saúde. Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para Profilaxia Pré-Exposição (PrEP) de Risco à Infecção pelo HIV. 2017 Disponível em: <https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/protocolo_clinico_profilaxia_prep.pdf>. Acesso em: 8 abr. 2022.

BRASIL. Ministério da Saúde. *Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para Manejo da Infecção pelo HIV em Adultos*. Brasília: Ministério da Saúde, 2018.

DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES (HHS). Post-Exposure Prophylaxis 2023. Disponível em: <https://www.hiv.gov/hiv-basics/hiv-prevention/using-hiv-medication-to-reduce-risk/post-exposure-prophylaxis/> Acesso em: 28 mar. 2023.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION (FDA), 2020. Antiretroviral drugs used in the treatment of HIV infection. Disponível em: <https://hivinfo.nih.

gov/understanding-hiv/fact-sheets/fda-approved-hiv-medicines>. Acesso em: 28 mar. 2023.

GLOBAL ADVOCACY FOR HIV PREVENTION (AVAC). 2015 Aids Vaccines: an introductory factsheet. Disponível em: <www.avac.org/resource/aids-vaccines-introductory-factsheet>. Acesso em: 8 abr. 2022.

GRINSZTEJN, B. *et al*. Retention, engagement, and adherence to pre-exposure prophylaxis for men who have sex with men and transgender women in PrEP Brasil: 48 week results of a demonstration study. *Lancet HIV*, 5(3): e136-e145, 2018.

MOLINA, J.-M. *et al*. On-demand preexposure prophylaxis in men at high risk for HIV-1 Infection. *The New England Journal of Medicine*, 373: 2.237-2.246, 2015.

RERKS-NGARM, S. *et al*. Vaccination with ALVAC and AIDSVAX to prevent HIV-1 infection in Thailand. *The New England Journal of Medicine*, 361(23): 2.209-2.220, 2009.

ROLAND, M. E. *et al*. Seroconversion following nonoccupational post exposure prophylaxis against HIV. *Clinical Infectious Diseases*, 41(10): 1.507-1.513, 2005.

UNAIDS. Joint United Nations Programme on HIV/AIDS. *Global AIDS Strategy 2021-2026*. info. Geneva, 2021. Disponível em: <https://www.unaids.org/en/Global-AIDS-Strategy-2021-2026>. Acesso em: 7 maio 2023.

Hepatite C

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância, Prevenção e Controle das Infecções Sexualmente Transmissíveis, do HIV/Aids e das Hepatites Virais. *Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para Hepatite C e Coinfecções*. Brasília: Ministério da Saúde, 2019a.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. *Boletim Epidemiológico – Hepatites Virais*, 2019b. Disponível em: <www.aids.gov.br>. Acesso em: 8 abr. 2022.

Hepatite B

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. *Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para Hepatite B e Coinfecções*. Brasília: Ministério da Saúde, 2017.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. *Boletim Epidemiológico – Hepatites Virais*, ano VII, n. 1, 2019.

Sarampo

FIEBELKORN, A. P.; SEWARD, J. F. & ORENSTEIN, W. A global perspective of vaccination of healthcare personnel against measles: systematic review. *Vaccine*, 32(38): 4.823-4.839, 2014. Disponível em: <doi:10.1016/j.vaccine.2013.11.005>. Acesso em: 8 abr. 2022.

MINA, M. J. *et al*. Measles virus infection diminishes preexisting antibodies that offer protection from other pathogens. *Science*, 366(6465):599-606: 2019.

MOSS, W. J. Measles. *The Lancet*, 390(10.111): 2.490-2.502, 2017. Disponível em: <doi:10.1016/S0140-6736(17)31463-0>. Acesso em: 8 abr. 2022.

PAULES, C. I.; MARSTON, H. D. & FAUCI, A. S. Measles in 2019 – Going Backward. *N. Engl. J. Med*. 2019;380(23):2185-2187. Disponível em: <doi:10.1056/NEJMp1905099>. Acesso em: 8 abr. 2022.

Caxumba (parotidite epidêmica)

LITMAN, N. & BAUM, S. G. Mumps virus. *In*: MANDELL, D.; DOLIN, R. & BLASER, M. J. (Eds.). *Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*. v. 2. 8. ed. Philadelphia: Saunders, 2015.

Varicela

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/c/catapora-varicela>. Acesso em: 28 mar. 2023.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE IMUNIZAÇÕES (SBIM). Site. Disponível em: <https://sbim.org.br/>. Acesso em: 8 abr. 2022.

VARICELLA and herpes zoster vaccines: WHO position paper, June 2014 – recommendations. *Vaccine*, 34(2): 198-199, 2016.

Raiva

BRASIL. Ministério da Saúde. Protocolo para tratamento de raiva humana no Brasil. *Epidemiologia e Serviços de Saúde*, 18(4): 385-394, 2009.

KESSELS, J. A. *et al*. Pre-exposure rabies prophylaxis: a systematic review. *Bulletin of the World Health Organization*, 95(3): 210- 219, 2017.

SINGH, R. *et al*. Rabies – epidemiology, pathogenesis, public health concerns and advances in diagnosis and control: a comprehensive review. *Veterinary Quarterly*, 37: 1, 212-251, 2017.

WILLOUGHBY JR., R. E. *et al*. Survival after treatment of rabies with induction of coma. *The New England Journal of Medicine*, 352(24): 2.508-2.514, 2005.

Rubéola

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Nota informativa n. 1, de 2015. Disponível em: <https://dive.sc.gov.br/index.php/component/phocadownload/category/109-rubeola>. Acesso em: 28 mar. 2023.

GRANT, G. B. *et al*. Progress toward rubella and congenital rubella syndrome control and elimination - worldwide, 2000-2018. *MMWR Morbidity and Mortalility Weekly Report*, 68(39): 855-859, 2019. Disponível em: <doi:10.15585/mmwr.mm6839a5>. Acesso em: 8 abr. 2022.

LAMBERT, N. *et al*. Rubella. *The Lancet*, 385(9984): 2.297-2.307, 2015.

Mammarenavírus

AMBROSIO, A. *et al*. Argentine hemorrhagic fever vaccines. *Human Vaccines*, 7: 694-700, 2011.

COIMBRA, T. L. M. *et al*. New arenavirus isolated in Brazil. *The Lancet*, 343: 391-392, 1994.

FERNANDES, J. *et al*. Xapuri virus a novel mammarenavirus: natural reassortment and increased diversity between New World viruses. *Emerging Microbes & Infections*, 7: 120, 2018.

Orthohantavírus

BRASIL. Ministério da Saúde. *Manual de Vigilância, Prevenção e Controle das Hantaviroses*. Brasíçia: Ministério da Saúde, 2013 Disponível em: <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_vigilancia_prevencao_controle_hantaviroses.pdf>. Acesso em: 3 jun. 2020.

JONSSON, C. B.; FIGUEIREDO, L. T. M. & VAPALAHTI, O. A global perspective on hantavirus ecology, epidemiology, and disease. *Clinical Microbiology Reviews*, 23: 412-441, 2010.

OLIVEIRA, R. C. *et al*. Hantavirus reservoirs: current status with an emphasis on data from Brazil. *Viruses*, 6(5): 1.929-1.973, 2014.

Influenza

NAESENS, L.; STEVAERT, A. & VANDERLINDEN, E. Antiviral therapies on the horizon for influenza. *Current Opinion in Pharmacology*, 30: 106-115, 2016.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Vaccines against influenza WHO position paper - November 2012. *Weekly Epidemiological Record*, 47(87): 461-476, 2012. Disponível em: <www.who.int/wer/2012/wer8747.pdf>. Acesso em: 25 mar. 2020.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). WHO recommendations on the composition of influenza virus vaccines, 2020. [updated 28 February 2020.] Disponível em: <www.who.int/influenza/vaccines/virus/recommendations/en/>. Acesso em: 25 mar. 2020.

Coronavírus

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção Especializada à Saúde. Departamento de Atenção Hospitalar, Domiciliar e de Urgência. *Protocolo de Manejo Clínico da Covid-19 na Atenção Especializada*. Brasília: Ministério da Saúde, 2020.

BRASIL. Ministério da Saúde. Vacinas covid-19, 2022a. Disponível em: <www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/paf/coronavirus/vacinas>. Acesso em: 31 mar. 2022.

BRASIL. Ministério da Saúde. Medicamentos aprovados para tratamento da covid-19, 2022b. Disponível em: <www.gov.br/anvisa/pt br/assuntos/paf/coronavirus/medicamentos>. Acesso em: 31 mar. 2022.

NADEEM, M. S. *et al*. Origin, potential therapeutic targets and treatment for coronavirus disease (covid-19). *Pathogens*, 9: 307, 2020.

Poxvírus

NAÇÕES UNIDAS (NU). *Varíola dos Macacos ou Monkeypox: tudo o que você precisa saber*. Disponível em: https://brasil.un.org/pt-br/192014-varíola-dos-macacos-ou-monkeypox-tudo-o-que-você-precisa-saber. Acesso em: 30 mar. 2023.

Center for Disease Control and Prevention (CDC). *Mpox: If you are sick*. Disponível em: <https://www.cdc.gov/poxvirus/mpox/if-sick/index.html>. Acesso em: 30 mar. 2023.

EUROPEAN MEDICINES AGENCY. *Tecovirimat SIGA*. Disponível em: https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/tecovirimat-siga. Acesso em: 30 mar. 2023.

Na vanguarda do conhecimento, reunindo áreas híbridas e multidisciplinares cruciais para o desenvolvimento científico e tecnológico do país, a coleção Bio está voltada para temas na interseção entre as pesquisas biológicas e biomédicas. Os conteúdos, em sua maioria ainda não disponíveis em língua portuguesa, são apresentados em linguagem simples por especialistas com competência técnico-científica e experiência prática. A proposta é contribuir para aprimorar a atualização e a qualificação de profissionais em temas de referência em biociência e biotecnologia, estimulando o diálogo sobre conhecimento científico e inovações.

ISBN 978-65-5708-151-8